

分子对接技术与光谱法分析薯蓣皂苷和人血清白蛋白的相互作用

裘兰兰¹, 李金贵², 李芳¹

(1. 江苏医药职业学院药学院, 江苏盐城 224006) (2. 扬州大学兽医学院, 江苏扬州 225009)

摘要: 研究探讨了薯蓣皂苷 (DS) 对人血清白蛋白 (HSA) 的作用机制。运用 dock 6.0 分子对接法、荧光发射光谱法和紫外分光光度法, 对 DS 同人体 HSA 之间的关系展开分析。DS 与 HSA 之间有 8 种结合方式, 再结合 Grid 打分值和 Internal energy 水平, 选择第 8 种优势构象, Grid 分数为 -75.9787 kcal/mol, 作用力为疏水作用, 结合的氨基酸残基主要是色氨酸 Trp214。荧光光谱显示 DS 浓度增大, HSA-DS 荧光强度降低且波长蓝移, 表示在 DS 作用下, HSA 所含色氨酸 (Trp) 的荧光强度出现猝灭现象。波长差 $\Delta\lambda=15$ nm 和 $\Delta\lambda=60$ nm 条件下测定的同步荧光现象说明两者结合后, HSA 所含 Trp 残基的附近环境随即出现了变化。根据 Stern-Volmer 方程计算得出双分子碰撞常数 K_q 均大于 2.0×10^{10} L/mol·s 和静态猝灭结合常数 K_a 均大于 5×10^4 L/mol, 证实猝灭机制属于疏水作用影响的静态猝灭, 结合位点为 1, 与分子对接结果一致。紫外吸收图谱显示 DS 浓度增加, 吸光度升高, 进一步阐明彼此发生了作用。分子对接及光谱表明两者主要在色氨酸 Trp214 位置处通过疏水作用结合, HSA 构象和微环境产生变化。从研究中获得的数据能够阐明薯蓣皂苷对 HSA 的作用机制, 为进一步理解薯蓣皂苷在人体的贮藏运输过程中对蛋白质功能的影响提供新依据。

关键词: 薯蓣皂苷; 人血清白蛋白; 分子对接技术; 荧光光谱; 同步荧光光谱

文章编号: 1673-9078(2020)10-93-99

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.10.0373

Interaction between Dioscin and Human Serum Albumin Analyzed by Molecular Docking Technique and Spectroscopy

QIU Lan-lan¹, LI Jin-gui², LI Fang¹

(1. Department of Pharmacy, Jiangsu Vocational College of Medicine, Yancheng 224006, China)

(2. School of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: In this research, the mechanism of action of dioscin (DS) on human serum albumin (HSA) was investigated. The relationship between DS and HSA was investigated using dock 6.0 molecular docking methods, fluorescence emission spectroscopy and ultraviolet spectrophotometry. There were 8 binding modes between DS and HSA. On the combined basis of the Grid score and internal energy level, The 8th dominant conformation (with a Grid score as -75.9787 kcal/mol) was selected (in which the interactive force was hydrophobic interaction with the main bound amino acid residue being tryptophan Trp214). The fluorescence spectra revealed that with the increase of DS concentration, the HSA-DS fluorescence intensity decreased accompanied by a blue shift, indicating the quenching of the fluorescence of tryptophan (Trp) in HAS under the action of DS. The synchronous fluorescence detected under the conditions of wavelength difference $\Delta\lambda=15$ nm and $\Delta\lambda=60$ nm indicates the immediate changes in the surrounding environment of the Trp residue contained in HAS upon the binding of DS and HAS. The

引文格式:

裘兰兰, 李金贵, 李芳. 分子对接技术与光谱法分析薯蓣皂苷和人血清白蛋白的相互作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(10): 93-99

QIU Lan-lan, LI Jin-gui, LI Fang. Interaction between dioscin and human serum albumin analyzed by molecular docking technique and spectroscopy [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(10): 93-99

收稿日期: 2020-04-23

基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目 (BK20180273); 江苏省高等学校自然科学研究面上项目资助 (17KJB350015); 江苏省高等职业教育产教融合平台立项项目 (苏教[2019]31号); 江苏医药职业学院科技创新团队资助项目 (20188103)

作者简介: 裘兰兰 (1983-), 女, 讲师, 研究方向: 现代药物分析技术的应用

通讯作者: 李金贵 (1971-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 中药制剂的应用及机理研究

calculations based on the Stern-Volmer equation revealed that the bimolecular collision constant K_q was higher than 2.0×10^{10} L/mol·s and the static quenching binding constant K_a was higher than 5×10^4 L/mol. These findings confirmed that the quenching mechanism was static quenching involving hydrophobic interactions with one binding site, and were in agreement with the molecular docking results. The UV absorption spectra showed that an increase of DS concentration corresponded to an increased absorbance, indicating further the interactions between DS and HSA. Molecular docking and spectroscopy analyses showed that DS and HSA were bound mainly at the Trp214 position of tryptophan via hydrophobic interactions, and HSA underwent conformational and microenvironmental changes. The data obtained from this research clarify the mechanisms underlying the action of dioscin on HSA, and provide a new basis for further understanding of the effect of dioscin on protein function during its storage and transportation within the human body.

Key words: dioscin; human serum albumin; molecular docking; fluorescence spectra; synchronous fluorescence spectroscopy

薯蓣科、石竹科及百合科等药物植物的主要活性成分是薯蓣皂苷 (Dioscin, DS)^[1], 其化学构成 (见图 1) 高度类似于甾体激素, 为肾上腺皮质激素类药物及口服避孕药合成的关键原料。根据现代药理学研究显示薯蓣皂苷对多种慢性疾病具有良好的预防及辅助治疗作用, 如抗炎、降血脂血压、抗动脉粥样硬化、抗恶性肿瘤、抗过敏等功效, 是有前途的治疗多种疾病的多靶点药物^[2]。然而药物给药进入血液循环后需经过血浆贮存运输, 才能到达靶细胞发挥药效; 对于人体而言, 其血浆中所含蛋白质以人血清白蛋白 (Human Serum Albumin, HSA) 为主, 此类蛋白质占绝对优势, 在体内作为内源性及外源性物质 (包括酶、类固醇激素、药物分子、代谢产物等) 的重要运输载体, 起到快速转运以及贮存效能^[3]。故研究药物与 HSA 的作用机制, 有助于从分子水平上理解药物在体内的运输和分布情况, 为设计更有效的药物提供理论指导和有价值的信息。

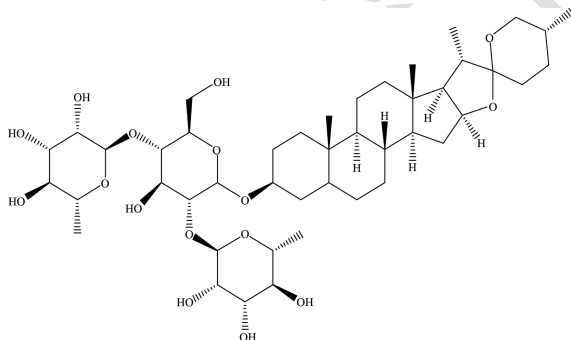


图 1 薯蓣皂苷的结构

Fig.1 The structure of Dioscin

HSA 在结构方面, 所含氨基酸小分子为 585 个, 有 6 个结构亚域 (见图 2)。这些结构亚域的疏水空腔能够与许多常见的药物小分子结合, 起到运输这些药物的效果; 还含有丰富的氢键供受体, 可与含有酯键和羧基的药物相互结合^[4]。因此 HSA 一般被专业研究人员当做模型蛋白用于探究此蛋白同药物小分子间的

相关性。但目前有关 DS 与 HSA 的相互作用研究较少。

光谱法在一些方面具备突出优势, 包括高灵敏度、易于操作等^[5,6], 在药物小分子同生物大分子相互作用与反应机制分析方面受到了普遍应用^[7,8]。分子对接法是基于 Fisher 提出的“锁与钥匙的模型”理论, 在蛋白质与核酸、蛋白质与小分子、蛋白质与蛋白质等领域的模拟有广泛应用。受体-配体的分子对接源于几何互补、能量相互匹配的原则的理论支撑来判断受体-配体间的相互作用。与试验方法不同, 分子对接可从分子水平上对人 HSA 与小分子的相互作用进行研究, 通过计算模拟得到相互作用的可视化分子对接结构图, 与光谱法等仪器分析传统手段相结合, 能更进一步探究两者的作用机制。本文结合以上两种技术研究了 DS 和 HSA 之间的相互作用, 运用分子模拟技术将薯蓣皂苷与 HSA 对接, 获得两者结合的三维分子结构图, 清晰准确的观察得到薯蓣皂苷与 HSA 的相互作用位置和作用力类型, 药物周围的氨基酸残基, 并计算出薯蓣皂苷与 HSA 的结合位点与结合距离, 从分子水平上研究了薯蓣皂苷与 HSA 的相互作用及其对二级结构的影响, 本研究将为理解薯蓣皂苷进入体内的具体作用机理及空间选择性作用机制提供新的实验依据。

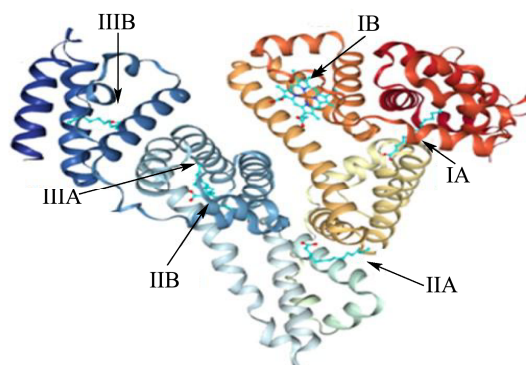


图 2 HSA 的结构与结合位点示意图

Fig.2 The structure and binding sites of human serum albumin

1 材料与方法

1.1 仪器

FS5 型荧光分光光度计, 英国爱丁堡公司; TU-1901 型紫外-可见分光光度计, 北京普析通用仪器公司; AL104 型电子天平, 上海 Mettler Toledo 公司。

1.2 药品与试剂

人血清白蛋白, 南京都莱生物科技有限公司 (批号: N1906220011, 纯度: >98%); 薯蓣皂苷对照品, 合肥博美生物科技有限责任公司 (批号: SD202004, 纯度: >98%); 氯化钠, 成都市科隆化学品有限公司 (分析纯); 三羟甲基氨基甲烷, 江苏强盛功能化学股份有限公司 (分析纯); 盐酸, 国药集团化学有限责任公司 (分析纯); 甲醇, 天津市大茂化学试剂厂 (分析纯); 其它试剂全部是分析纯。人血清白蛋白用 pH 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液 (含 0.5 mol/L NaCl) 配制成 5×10^{-6} mol/L 的贮备液, 薯蓣皂苷对照品用甲醇配制成 4×10^{-5} mol/L 的贮备液, 4 °C 冰箱存贮。

1.3 试验方法

1.3.1 分子对接

借助殷赋云计算平台 (<http://cloud.yinfotek.com/>) 完成分子对接操作。通过 JSME 画板绘制小分子薯蓣皂苷的化学结构, 继而转为 3D 结构, 并在 MMFF94 力场下进行能量最小化。平台借助 RCSB Protein Data Bank 数据库 (<http://www.rcsb.org/>) 对 HSA 的晶体/NMR 结构实现自动获取 (PDB 编号: 1N5U)。经过若干步骤仔细处理蛋白结构, 包括: 残基的修复处理、质子化处理, 还有于 AMBER ff14SB 力场下进行偏电荷的添加。借助工具 DMS 通过探针 (半径为 1.4 Å) 获得蛋白质表面。以晶体配体定义结合口袋, 采用 DOCK 6.9 程序^[9,10]进行半柔性对接, 生成 10000 个不同的构象取向。对候选构象实施聚类分析 (RMSD 阈值 2.0 Å), 提取到打分最优的构象, 采用 Grid 打分函数进行能量评价。

1.3.2 荧光光谱和同步荧光光谱测定

精密量取 4 mL 5×10^{-6} mol/L 的 HSA 的 Tris-HCl 缓冲溶液置于 10 mL 比色管中, 依次向其中加入适量的薯蓣皂苷溶液使其中药物浓度分别为 0、0.5、1.0、1.5、2.0 以及 2.5 $\mu\text{mol/L}$, 待经彻底混合, 于 298 K、310 K 和 318 K 时, 进行 0.5 h 恒温水浴处理, 然后依次测定荧光光谱。荧光光谱参数设置激发波长 λ_{ex} 280 nm, 石英比色皿 1 cm, 激发与发射狭缝宽度均为 5

nm, 在 300~480 nm 扫描 HSA 和 HSA-DS 体系的荧光光谱; 固定波长差 $\Delta\lambda$ 各为 15、60 nm, 选择扫描区间, 最低为 240 nm, 最高为 340 nm, 记录同步荧光光谱。

1.3.3 紫外吸收光谱测定

精密量取 4 mL 5×10^{-6} mol/L 的 HSA 的 Tris-HCl 缓冲溶液置于 10 mL 比色管中, 依次向其中加入适量薯蓣皂苷溶液使其浓度分别为 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 $\mu\text{mol/L}$, 于 298 K 条件下, 进行 0.5 h 恒温水浴处理, 以相同条件下的空白试剂为参比, 放在 1 cm 石英吸收池内, 于 200 至 400 nm 区间内, 对各溶液的紫外吸收光谱进行扫描检测。

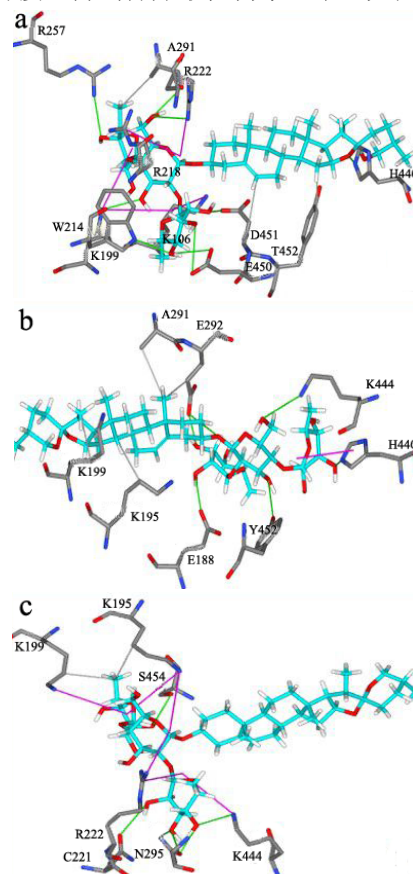
1.3.4 数据处理

本文运用 Microsoft Excel 2016, origin 8.5, Graphpad prism 7 等软件处理实验所得数据, 绘制薯蓣皂苷与人血清白蛋白相互作用的荧光光谱、同步荧光光谱、紫外-可见吸收光谱, 并由谱图变化分析两者之间的相互作用机制。

2 结果与讨论

2.1 分子对接分析

运用 dock6 软件模拟薯蓣皂苷小分子与 HSA 的结合位点对接, 得到打分最佳构象 8 个 (见图 3)。



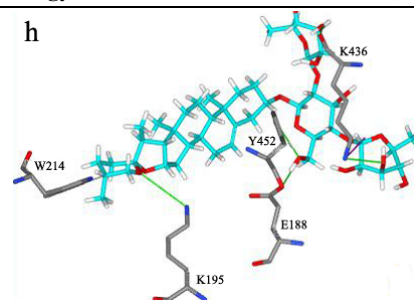
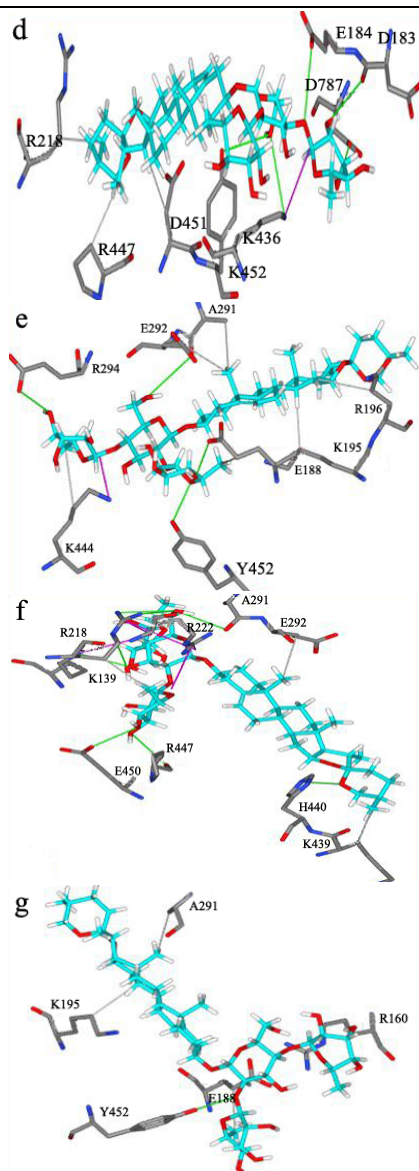


图3 薯蓣皂苷与HSA的8种结合构象图

Fig.3 Binding pattern diagram of dioscin and HSA

图3中形象地展示了薯蓣皂苷与HSA的8种结合构象图，可以看出薯蓣皂苷与人血清白蛋白的的氨基酸残基结合。Dock6的对接打分总值Grid Score，正值、负值分别说明未结合、结合，而且打分值愈底（负值的绝对值愈高），说明结合愈佳。其与静电力、范德华力这两项能量参数的相关性可通过 $Grid\ Score = Grid_es + Grid_vdw$ 来表示。若Grid Score在-40 kcal/mol以上，可判定结合力不佳；若此值在-40 kcal/mol与-50 kcal/mol之间，则判定结合中等，若此值在-50 kcal/mol以下，则判定结合较好。

DS与HSA分子对接打分数见表1。表1中的8中构象按照Grid分数由大到小排列，内能越大，两者的结合物张力越大，结合越不稳定，所以选择内能最小，结合最稳定的第8种构象为最优构象进行下一步分析，该复合物DS-HSA的分子对接得分是-75.9787 kcal/mol，说明药物与HSA形成热力学稳定性的分子符合，相互作用程度较高，结合稳定，同静电力相比，范德华力明显贡献更大。图4为该复合物中薯蓣皂苷与HSA氨基酸残基相互作用的分子对接图谱。

表1 分子对接的Glide打分

Table 1 Glide score of molecular docking

No	Grid 分数/(kcal/mol)	范德华力/(kcal/mol)	静电力/(kcal/mol)	内能/(kcal/mol)
1	-99.5437	-82.8144	-16.7292	35.3137
2	-86.2221	-77.7990	-8.4231	79.0958
3	-82.7146	-74.3199	-8.3946	20.0592
4	-80.2324	-72.8185	-7.4139	22.3732
5	-79.5814	-75.9438	-3.6376	36.3965
6	-79.4837	-73.8760	-5.6078	22.6797
7	-77.3478	-75.0973	-2.2505	29.8962
8	-75.9787	-69.7772	-6.2015	17.3387

图4及表2的对接结果表明，DS与HSA的疏水腔内结合比较牢固，灰色线条代表疏水作用力，绿色表示氢键作用，紫色代表形成了盐桥。与薯蓣皂苷产

生疏水相互作用的氨基酸残基有色氨酸 Trp214，形成氢键的氨基酸残基包括 Glu188、Lys436、Lys195、Try452。

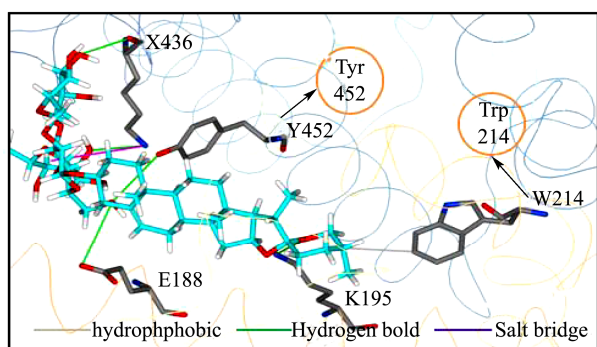


图4 薯蓣皂苷与HSA中氨基酸残基相互作用的分子对接图

Fig.4 Molecular docking diagram of interaction between dioscin and amino acid residues in HSA

表2 薯蓣皂苷和HSA的主要相互作用力和氨基酸残基

Table 2 Docking results of the main force and vital residues

involved in interaction of HSA with dioscin	
相互作用力	氨基酸残基
疏水作用力	色氨酸 214
氢键	谷氨酸 188, 赖氨酸 436, 赖氨酸 195, 酪氨酸 452
盐桥	赖氨酸 456

2.2 光谱分析

2.2.1 荧光光谱分析

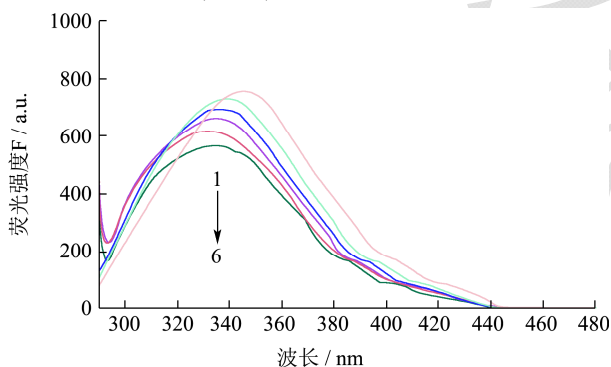


图5 薯蓣皂苷与HSA相互作用的荧光光谱图

Fig.5 Fluorescence spectrum of HSA with Dioscin

注: c(HSA)=5.0 μmol/L, λ_{ex}=280 nm, pH 7.40, T=298 K, the concentration of dioscin (1→6): 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 μmol/L, 图6、图7同。

HSA上存在诸如苯丙氨酸(Phe)、酪氨酸(Tyr)以及色氨酸(Trp)此类内部具有共轭结构分布的氨基酸残基, 此类基团能够释放内源性荧光, 其中, 色氨酸残基的荧光量子产率最高。图5为模拟生理条件下的HSA及DS-HSA在300~480 nm范围内的荧光光谱。通过图5可发现, 波长为340 nm时, 对应着最高的荧光强度, 在所添加DS浓度不断提高下, 荧光强度呈现不断地降低的趋势, 同时伴随一定程度的波长蓝

移, 可见, DS与HSA双方的相关性非常显著, 使得HSA上所含色氨酸残基附件的微环境极性减小, 从而直接引起了内源荧光的猝灭和波长的蓝移。

2.2.2 荧光猝灭机制

通常情况下, 将荧光猝灭分成动态猝灭、静态猝灭两类。若温度上调, 碰撞数目的有效离子增加, 增强电子转移, 荧光成分的猝灭常数提高, 属于动态猝灭; 静态猝灭则温度升高时, 复合物稳定性减弱, 猝灭常数下降。要想确定薯蓣皂苷对人血清白蛋白的荧光猝灭机制是动态猝灭还是静态猝灭, 尚应对各温度条件时的荧光光谱进行检测, 然后根据动态猝灭方程Stem-Volmer方程^[11-13]计算猝灭常数 K_q 。

$$F_0 / F = 1 + K_q \tau_0 C_q = 1 + \lg K_{sv} C_q \quad (1)$$

式中: F_0 代表未添加药物时的荧光强度, F 代表添加药物后的荧光强度, K_q 为分子碰撞猝灭常数, 体现分子扩散、碰撞影响生物大分子荧光寿命衰减速率的程度; C_q 代表作为猝灭剂之用的药物浓度, K_{sv} 为Stem-Volmer猝灭常数, 此参数体现的为药物小分子同生物大分子互相扩散与碰撞呈平衡状态的量效关系, 同时 K_{sv} 与 $K_q \tau_0$ 相等, τ_0 代表未添加猝灭成分时具有有荧光的生物大分子的寿命平均值, 通常此值在 10^{-8} s左右。

本文重点考察了298 K、303 K以及310 K时HSA同DS互作行为的荧光猝灭光谱, 不同温度条件时, 通过DS-HSA的 F_0/F , 完成相关DS浓度 C_q 图的绘制, 求出不同温度下的猝灭常数 K_q (见表3)。

表3 不同温度下薯蓣皂苷和HSA相互作用的猝灭常数 K_q

Table 3 Quenching constant of the systems of DS-HSA at different temperature

pH	温度 K	$K_q \times 10^{12} / (L/mol \cdot s)$	相关系数 r
7.40	298	10.15	0.9935
	303	8.66	0.9958
	310	6.57	0.9986

若药物对生物大分子的猝灭属于动态猝灭, 那么最高动态猝灭常数是 2.0×10^{10} L/mol·s。而表3中计算所得的 K_q 值均大于这个数值, 而且在温度上调时, 猝灭常数不断减小, 这也符合静态猝灭的变化。所以, 能够判定两者间存在互作性, 其相关机制是静态猝灭。

2.2.3 结合常数与结合位点数

静态猝灭为DS-HSA相互作用的猝灭机制, 该猝灭原理符合以下公式:^[14,15]

$$\lg[(F_0 - F) / F] = n \lg C_q + \lg K_a \quad (2)$$

通过 $\lg(F_0 - F) / F$, 完成 $\lg C_q$ 相关图的绘制, 通过曲线的截距和斜率, 进行DS和HSA的 K_a (结合常数)值、n(结合位点数)值的求解, 求解值见表4。

表 4 属于皂苷与 HSA 的结合常数 K_a 及结合位点数 n

Table 4 The binding constant, K_a , the number of binding sites, n

pH	温度 K	$K_a/(\times 10^4 \text{ L/mol})$	结合位点数 n	相关系数 r
	298	6.286	1.08	0.9948
7.40	303	8.533	1.12	0.9975
	310	9.752	1.10	0.9939

由表 4 中实验数据可以看出, DS 与 HSA 的 K_a 值都在 $5 \times 10^4 \text{ L/mol}$ 以上, 数值较高, 且随温度的升高而增强, 表示双方面的互作性较强, 结合位点数近似等于 1, 该结果与 2.1 中分子对接结果, 疏水作用主要在 Trp214 上一致。

2.3 同步荧光光谱分析

探讨蛋白质构象变化最常用的方法之一就是同步荧光光谱, 此方法被普遍用来分析药物影响 HSA 构象程度方面。 $\Delta\lambda=15 \text{ nm}$ 、 $\Delta\lambda=60 \text{ nm}$ 分别体现的为 Tyr 残基、Trp 残基荧光光谱特征。氨基酸所处微环境的极性会影响上述两种氨基酸的最大发射波长, 如果所属环境疏水性降低, 最大发射波长可出现红移现象, 反之, 则会出现蓝移现象。故而, 通过上述红移、蓝移状况, 能够对蛋白质构象发生变化与否给予判定。图 6、7 展示的是, 当波长差为 $\Delta\lambda=15 \text{ nm}$ 和 $\Delta\lambda=60 \text{ nm}$ 时 DS-HSA 相应的同步荧光光谱图。

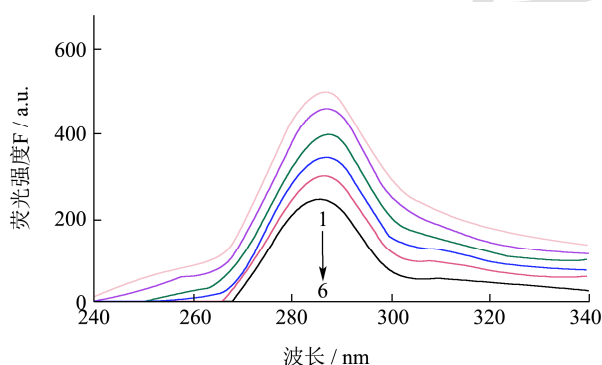


图 6 DS 和 HSA 相互作用的同步荧光光谱

Fig.6 Synchronous fluorescence spectra of DS-HAS ($\Delta\lambda=15 \text{ nm}$)

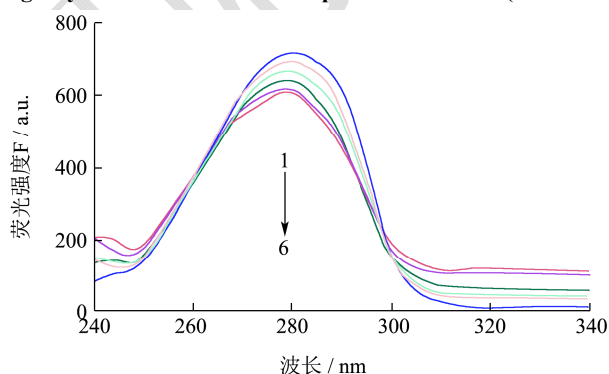


图 7 薯蓣皂苷和 HSA 相互作用的同步荧光光谱

Fig.7 Synchronous fluorescence spectra of DS-HAS ($\Delta\lambda=60 \text{ nm}$)

由图 6、7 可以看出, 在 DS 浓度提高时, 荧光强度均有所降低, 说明两者确实存在相互作用。但是 $\Delta\lambda=15 \text{ nm}$ 时, 对同步荧光光谱而言, 其最大发射波长未见明显变化, 而在 $\Delta\lambda=60 \text{ nm}$ 时, 显示最大发射波长有蓝移现象发生 (从 281.8 nm 蓝移到 280.0 nm), 可见加入药物之后, 导致 Trp 残基所在环境的疏水性稍有增加, 构象出现了一定波动。

2.4 紫外吸收光谱分析

检测化合物与 HSA 是否形成复合物除了荧光光谱法之外, 紫外吸收光谱法也不失为一种有效的方法。通过 190 至 400 nm 吸收波长下的紫外光谱, 能够获知蛋白质主链信息, 根据 280 nm 紫外吸收光谱能够获知芳香族氨基酸残基状况。DS-HSA 的紫外光谱图见图 8。

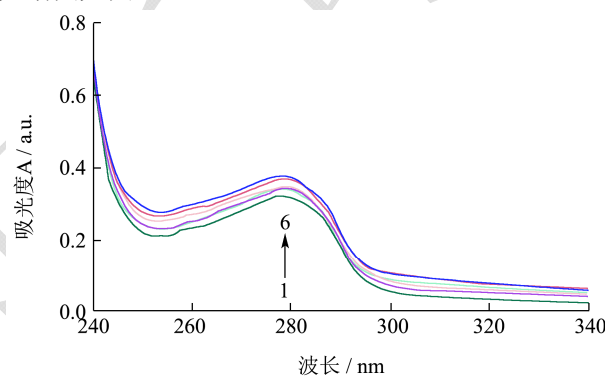


图 8 薯蓣皂苷与 HSA 相互作用的紫外光谱图

Fig.8 UV spectrum of DS-HSA

注: $c(\text{HSA})=5.0 \mu\text{mol/L}$, $\lambda_{\text{max}}=280 \text{ nm}$, $\text{pH } 7.40$, $T=298 \text{ K}$, the concentration of dioscin (1→6): 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 。

如图 8, HSA 的紫外最高吸收波长是 280 nm, 加入的 DS 浓度增大, 吸光度出现增加趋势, 可见, 药物与 HSA 之间互作性明显, 对 HSA 的构象产生影响, 进一步佐证了分子对接与荧光光谱的结果。

3 结论

在应用分子对接技术的基础上, 再结合荧光光谱、紫外光谱等技术的应用, 对 DS 同 HSA 间互作性展开分析。分子对接 Grid 分数表明两者结合较牢固, 主要作用为疏水作用力, 药物结合的氨基酸残基位置主要在 Trp214。HSA 的荧光光谱中加入 DS 后表现出有猝灭现象, 且为静态猝灭, 求解出相关结合常数及结合位点数, 同步荧光光谱最大发射波长出现蓝移, 说明薯蓣皂苷使色氨酸残基所处环境发生变化, 紫外光谱实验同样说明两者结合能力较强, 作用力以疏水作用力为主, 与分子对接相符。本研究为理解薯蓣皂苷在

体内的具体作用机理及空间选择性作用机制提供了新的实验依据, 接下来我们将进一步研究薯蓣皂苷与体内靶向蛋白的相互作用机制, 除了采用荧光光谱法与分子对接技术之外, 课题组也将尝试使用毛细管电泳法, 液相色谱质谱联用技术, 来对生物小分子与生物大分子间的互作性展开研究。

参考文献

- [1] TAO Xu-feng, YIN Lian-hong, XU Li-na, et al. Dioscin: a diverse acting natural compound with therapeutic potential in metabolic diseases, cancer, inflammation and infections [J]. *Pharmacological Research*, 2018, 137: 259-269
- [2] FAN Tian-fei, HE Jing-hua, YIN Yong-qiang, et al. Dioscin inhibits intimal hyperplasia in rat carotid artery balloon injury model through inhibition of the MAPK-FoxM1 pathway [J]. *European Journal of Pharmacology*, 2019, 854: 213-223
- [3] YANG Long-fei. Recent advances in the pharmacological activities of dioscin [J]. *Biomed Research International*, 2019, 2019: 1-13
- [4] Ghuman J, Zunsain P A, Petitpas I, et al. Structural basis of the drug-binding specificity of human serum albumin [J]. *J Mol Biol*, 2005, 353: 38-52
- [5] WANG Jia-man, MA Liang, ZHANG Yu-hao, et al. Investigation of the interaction of deltamethrin (DM) with human serum albumin by multispectroscopic method [J]. *Journal of Molecular Structure*, 2017, 1129: 160-168
- [6] WANG Kun, WANG Zhong, XIE Yan-hua, et al. Molecular mechanism investigation on the interaction of Clothianidin with human serum albumin [J]. *Spectroscopy Letters*, 2019, 52(5): 246-252
- [7] 武小明,李丽慧,霍佳颖,等.降龙涎二醇与牛血清白蛋白的相互作用[J].现代食品科技,2019,35(5):124-130
WU Xiao-ming, LI Li-hui, HUO Jia-ying, et al. Study on the interaction between ambradiol and bovine serum albumin [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2019, 35(5): 124-130
- [8] 吴克刚,周华丽,柴向华,等.光谱法研究芳樟醇与牛血清白蛋白的相互作用[J].现代食品科技,2015,31(12):141-138
WU Ke-gang, ZHOU Hua-li, CHAI Xiang-hua, et al. Multi-spectroscopic studies of the interaction of linalool with bovine serum albumin [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(12): 141-138
- [9] Lang P Therese, Brozell Scott R, Mukherjee Sudipto, et al. Dock 6: combining techniques to model RNA-small molecule complexes [J]. *RNA*, 2009, 15(6): 1219-1230
- [10] Sudipto Mukherjee, Trent E. Balias, Robert C Rizzo. Docking validation resources: protein family and ligand flexibility experiments [J]. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 2010, 50(11): 1986-2000
- [11] YANG Wu, YANG Lu-lu, YI Zhong-sheng, et al. Investigation, affinity of BDE154 and 3OH-BDE154 with HSA: experimental and simulation validation [J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2017, 51: 85-93
- [12] TIAN Zhi-yong, ZANG Feng-lei, LUO Wen, et al. Spectroscopic study on the interaction between mononaphthalimide spermidine (MINS) and bovine serum albumin (BSA) [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology B-biology*, 2015, 142: 103-109
- [13] Gholami Samira, Bordbar Abdol-Khalegh. Exploring binding properties of naringenin with bovine beta-lactoglobulin: a fluorescence, molecular docking and molecular dynamics simulation study [J]. *Biophysical Chemistry*, 2014, 187: 33-42
- [14] 韩忠保,吴雨杭,米媛媛,等.荧光光谱法结合分子对接研究人血清白蛋白对齐墩果酸与熊果酸的异构体识别作用[J].光谱学与光谱分析,2019,39(7):2190-2195
HAN Zhong-bao, WU Yu-hang, MI Yuan-yuan, et al. Isomeric discrimination of oleanolic and ursolic acids by human serum albumin: a joint study of fluorescence spectroscopy and molecular docking [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2019, 39(7): 2190-2195
- [15] 熊时鹏,陈建波.多光谱法和分子对接研究 α -熊果苷与人血清白蛋白的相互作用[J].光谱学与光谱分析,2018,38(11):3489-3494
XIONG Shi-peng, CHEN Jian-bo. Characterization of the interaction between alpha arbutin and human serum albumin with spectroscopic method and molecular docking [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2018, 38(11): 3489-3494