

法莫替丁与牛血清蛋白相互作用的光谱研究

俞波¹, 兰秀凤¹, 张林², 邹如萍¹, 陈奇¹

¹南京航空航天大学理学院, 江苏 南京 210016;

²河海大学理学院, 江苏 南京 211100

摘要 法莫替丁是组织胺 H2 受体拮抗剂, 具有减弱胃酸生成的作用。通过分析荧光光谱和紫外可见吸收光谱探寻了法莫替丁与牛血清蛋白(BSA)的猝灭作用, 并阐明两者间的作用机制。通过分析可知, 法莫替丁能有效猝灭 BSA 的内源荧光, 猝灭机制为静态猝灭。测定了法莫替丁与 BSA 在 306 K 和 314 K 下的表观结合常数 K_A , 分别为 9.861×10^4 , 3.891×10^4 L/mol。通过对猝灭过程中的热力学参数进行分析, 得出法莫替丁与 BSA 的作用力主要是氢键和范德瓦耳斯力。凭借 Förster 非辐射能量转移理论计算得到了法莫替丁和 BSA 的相互作用距离为 1.25 nm, 发生了非辐射能量转移。

关键词 光谱学; 生物医学光子学; 法莫替丁; 荧光光谱; 牛血清白蛋白; 紫外吸收光谱

中图分类号 O657.3

文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP55.043003

Spectroscopic Study on Interaction of Famotidine with Bovine Serum Albumin

Yu Bo¹, Lan Xiufeng¹, Zhang Lin², Zou Ruping¹, Chen Qi¹

¹ School of Science, Nanjing University of Aeronautics & Astronautics, Nanjing, Jiangsu 210016, China;

² School of Science, Hohai University, Nanjing, Jiangsu 211100, China

Abstract Famotidine is a histamine H2 receptor antagonist, which has a significant inhibitory effect on gastric acid secretion. The quenching effect between famotidine and bovine serum albumin (BSA) is studied with the analysis of fluorescence spectrum and ultraviolet visible absorption spectrum, and the interaction mechanism between them is elucidated. The results show that famotidine has strong quenching effect on the endogenous fluorescence of BSA, and the quenching mechanism is static quenching. The apparent binding constant K_A of famotidine and BSA at 306 K and 314 K is determined to be 9.861×10^4 L/mol and 3.891×10^4 L/mol. The calculated thermodynamic parameters show that the interaction between famotidine and BSA is mainly hydrogen bond and van der Waals force. According to the Förster nonradiative energy transfer theory, the interaction distance of famotidine and BSA is calculated to be 1.25 nm, and nonradiative energy transfer occurs.

Key words spectroscopy; biomedicine photonics; famotidine; fluorescence spectra; bovine serum albumin; ultraviolet absorption spectrum

OCIS codes 300.6170; 170.1420; 070.4790; 170.6280

1 引言

蛋白质是人体内最重要的组成部分, 不仅能为人体提供能量, 还是生命活动的主要承担者。蛋白质的结构组成是生物科学领域的核心课题之一, 人

们尝试采用不同的分析方法来解析药物对蛋白质结构功能的影响^[1-2]。血清蛋白是蛋白质的一种, 能起到结合并搬运许多内源和外源化合物, 并将其送至目标部位的重要作用^[3-6]。研究血清蛋白与药物小分子的相互作用有助于理解药物传输、分配、生效的

收稿日期: 2017-09-26; 收到修改稿日期: 2017-11-13

基金项目: 航空科学基金(20150352005)、中央高校基本科研业务费专项资金(NS2015080)

作者简介: 俞波(1993—), 男, 硕士研究生, 主要从事生物大分子的光谱特性研究。E-mail: 2398532010@qq.com

导师简介: 兰秀凤(1976—), 女, 博士, 副教授, 硕士生导师, 主要从事生物医学光子学方面的研究。

E-mail: orchidxf@nuaa.edu.cn(通信联系人)

机理,也有助于新药的研发^[7-9]。

牛血清蛋白(BSA)结构稳定,价格低廉,与人血清蛋白(HSA)同源,因此常被用作 HSA 的替代品,研究药物在人体内的运作^[10]。

组胺 H2 受体的发现推动了抑制胃酸和胃液分泌的抗消化道溃疡类药物的研制,西咪替丁、雷尼替丁和法莫替丁等新药都是受体研究的重要成果^[11]。法莫替丁能有效抑制胃酸分泌,可用来治疗胃及十二指肠溃疡、急性胃黏膜出血,以及反流性食道炎等^[12-13]。本文结合荧光光谱和紫外吸收光谱研究了法莫替丁与 BSA 之间的作用类型和作用力,为厘清法莫替丁在人体内的生效机理提供了依据。

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

BSA 购于南京奥多福尼生物科技有限公司,其纯度大于 80%,分子相对质量为 66430。称取适量 BSA 并用含 0.05 mol/L NaCl 的 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲溶液配制成 BSA 溶液,备用。实验用水为蒸馏水。

法莫替丁购于上海信谊药厂有限公司,其分子式为 $C_8H_{15}N_7O_2S_3$,分子相对质量为 337.45。分子结构式如图 1 所示。称取 10 mg 法莫替丁溶于甲醇(江苏永丰化学试剂有限公司,纯度不低于 99.5%)中,配制成 2.96×10^{-6} mol/L 的法莫替丁溶液。

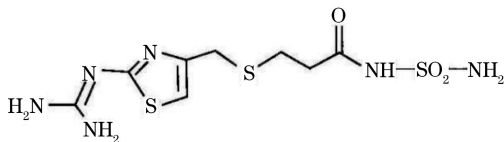


图 1 法莫替丁的结构式

Fig. 1 Chemical structure of famotidine

实验采用的仪器有 Perkins Elmer LS55 荧光分光光度计、上海天美 UV3600 紫外可见分光光度计、上海江星 HH-2 数显恒温水浴锅、上海舜宇恒平 FA2004 电子天平(精度为 0.0001)、德国 Eppendorf 公司微量移液枪(10 μ L, 100 μ L, 1000 μ L)。

2.2 实验方法

用移液枪取 3 mL 5.3×10^{-7} mol/L 的 BSA 溶液转移到比色皿中,将比色皿水浴加热至 32 $^{\circ}$ C,然后放入荧光光谱仪中进行扫描;采用波长为 285 nm 的激发光,激发和发射狭缝宽度为 4 nm,扫描速度为 300 nm/min。先测量未加药时纯 BSA 的光谱,接着逐次加入 5 μ L 2.96×10^{-6} mol/L 的法莫替丁溶液,并逐一测量其光谱。再将水浴锅温度调节至 40 $^{\circ}$ C,重复以上操作。

为计算结合距离,取 5×10^{-6} mol/L 的 BSA 溶液和法莫替丁溶液,用上海天美 UV3600 紫外分光光度计测量其在 290~450 nm 波长范围内的紫外吸收光谱;将 LS55 荧光光谱仪激发波长设定为 285 nm,设定激发和发射狭缝为 5 nm,扫描 BSA 溶液在 290~450 nm 波长范围内的荧光光谱。

3 结果与讨论

3.1 荧光猝灭光谱

广义上来说,能令荧光强度或相关峰位发生变动的过程都可以称为荧光猝灭。荧光猝灭剂是能与荧光物质分子发生相互作用,令荧光强度和激发峰位、荧光峰位发生变化的物质^[14]。

图 2 为加入不同剂量法莫替丁前后 BSA 的荧光猝灭光谱, λ_{ex} 为荧光最大激发波长。从 1 到 7,法莫替丁的加入量依次递增,分别为 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 μ L。由图 2 可见:体系的荧光强度随着法莫替丁溶液的滴入而减小。实验过程中滴加的试剂对 BSA 溶液产生了稀释作用,可能会导致荧光强度降低,但由于每次操作只滴加 5 μ L 的法莫替丁溶液,6 次滴加的总量也只有 30 μ L,相对于 3 mL 的 BSA 溶液,产生的稀释作用可以忽略不计。此外,只滴加溶剂(甲醇)的对比实验证明了溶剂本身对 BSA 溶液光谱的影响十分微弱,可以排除甲醇对实验的影响。由此可见,荧光强度的减弱来自于法莫替丁对 BSA 的荧光猝灭作用。

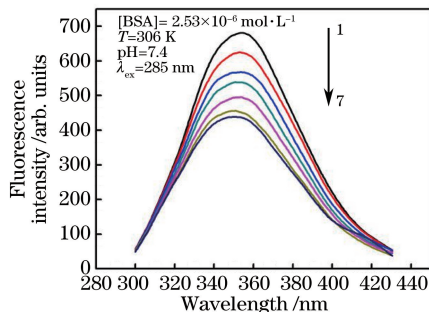


图 2 法莫替丁-BSA 的荧光猝灭光谱

Fig. 2 Fluorescence quenching spectra of famotidine-BSA system

3.2 荧光猝灭类型

蛋白质和小分子相互作用的猝灭类型通常分为两类:静态猝灭和动态猝灭^[15]。静态猝灭是指荧光分子和猝灭分子在基态通过络合反应生成超分子化合物,从而使荧光基团的发光强度减弱;动态猝灭是指荧光物质的激发态分子与猝灭分子发生碰撞,经电荷或能量转移后返回到基态的过程。

辨别猝灭类型的方法通常是温度改变前后猝灭常数的变化趋势。温度上升后,如果发生的是动态猝灭,那么粒子的碰撞将会被加剧,猝灭常数增大;相反,若是静态猝灭,结合物的稳定性会随着温度升高而降低,猝灭常数会降低。因此,猝灭机理可以用温度的变化来辨别^[16-20]。

猝灭机制可以由 Stern-Volmer 方程来描述:

$$F_0/F = 1 + K_q \cdot \tau_0 \cdot [Q] = 1 + K_{SV} [Q], \quad (1)$$

式中 F_0/F 为荧光强度比; $[Q]$ 为猝灭剂的浓度; K_q 为双分子猝灭过程的速率常数; τ_0 为未加猝灭剂时荧光分子的平均寿命(对于大多数的生物分子而言, τ_0 约为 10 ns)^[21-23]; K_{SV} 为 Stern-Volmer 猝灭常数,是双分子猝灭速率常数与单分子衰变速率常数的比率^[24]。

图 3 给出了不同温度下,法莫替丁与 BSA 溶液猝灭作用的 Stern-Volmer 曲线。通过拟合得到的 Stern-Volmer 线性方程、相关系数、Stern-Volmer 猝灭常数和速率常数列于表 1 中。

通过分析图 3 和表 1 可知,荧光强度比 F_0/F 随着猝灭剂法莫替丁浓度 $[Q]$ 的增加而线性上升,

说明法莫替丁与 BSA 的相互作用为单一猝灭类型。生物大分子的最大扩散碰撞猝灭速率常数 $K_q = 2.0 \times 10^{10} \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$,法莫替丁与 BSA 的猝灭常数大于 K_q ,可以初步判断该过程主要是静态猝灭^[25-30]。此外,随着温度上升,Stern-Volmer 方程的斜率下降,即猝灭常数 K_{SV} 下降,说明 BSA 与猝灭剂形成的复合物随着温度升高而趋向于不稳定,是典型的静态猝灭特征。综上分析可知法莫替丁对 BSA 的猝灭类型为静态猝灭。

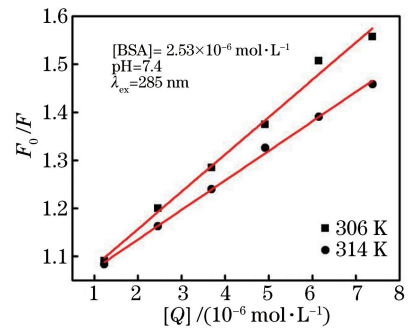


图 3 法莫替丁与 BSA 相互作用的 Stern-Volmer 曲线

Fig. 3 Stern-Volmer plots of BSA interacted by famotidine

表 1 法莫替丁-BSA 体系的 Stern-Volmer 方程、猝灭常数及速率常数

Table 1 Stern-Volmer equation, quenching constant and quenching rate constant of famotidine-BSA system

T/K	Linear equation of Stern-Volmer	Correlation coefficient	Quenching constant $K_{SV}/(10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1})$	Quenching rate constant $K_q/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$
306	$F_0/F = 1.0128 + 7.773 \times 10^4 [Q]$	0.99023	7.773×10^4	7.773×10^{12}
314	$F_0/F = 1.01207 + 6.15 \times 10^4 [Q]$	0.99754	6.15×10^4	6.15×10^{12}

3.3 表观结合常数和结合位点

静态猝灭是指荧光体与猝灭剂结合形成复合物导致荧光减弱的现象。对于静态猝灭,荧光体分子与猝灭剂之间的作用关系常用双对数方程^[31]表示:

$$\lg [(F_0 - F)/F] = \lg K_A + n \lg [Q], \quad (2)$$

式中 F_0/F 分别为添加法莫替丁前后 BSA 体系的荧光强度, K_A 为药物分子与蛋白质生物大分子的表观结合常数, n 为结合位点数。当在 BSA 中逐滴加入猝灭剂法莫替丁后,以 $\lg [(F_0 - F)/F]$ 为纵坐标, $\lg [Q]$ 为横坐标可以拟合得到一条直线,如图 4 所示。

由图 4 可见,不同温度下拟合得到的双对数曲线均保持良好的线性关系。将各个温度的结合位点

数 n 和表观结合常数汇总后可得表 2。

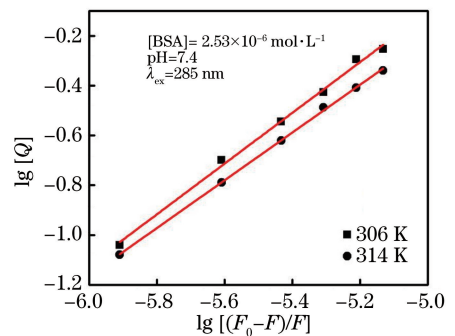


图 4 不同温度下 $\lg [(F_0 - F)/F] - \lg [Q]$ 拟合直线

Fig. 4 Fitted $\lg [(F_0 - F)/F] - \lg [Q]$ curves at different temperatures

表 2 法莫替丁-BSA 体系的表观结合常数与结合位点数

Table 2 Apparent binding constant and number of binding sites of famotidine-BSA system

T/K	Linear equation	Correlation coefficient R^2	Number of binding sites n	Apparent binding constant $K_A/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$
306	$\lg [(F_0 - F)/F] = 4.99392 + 1.01904 \lg [Q]$	0.99544	1.01904	9.861×10^4
314	$\lg [(F_0 - F)/F] = 4.59005 + 0.95886 \lg [Q]$	0.99926	0.95886	3.891×10^4

从表 2 可以看出:在 306 K 和 304 K 下,法莫替丁与 BSA 的结合位点数 n 分别为 1.01904 和 0.95886,均约为 1,即一个 BSA 大分子上有一个结合位点,该结合位点可与一个法莫替丁分子结合;不同温度下的表观结合常数均达到 10^4 数量级,说明法莫替丁与 BSA 的结合能力很强;表观结合常数随着温度的升高而降低,符合静态猝灭的特征。

3.4 作用力类型的确定

药物与大分子之间的相互作用类型包括氢键、范德瓦耳斯力、静电引力和疏水作用力等。根据 Ross 等的研究结果可知^[32],通过反应前后的焓变 ΔH 和熵变 ΔS 可以判断药物与蛋白质分子之间的

表 3 热力学参数表

Table 3 Thermodynamic parameter table

T/K	$K_A/(L \cdot mol^{-1})$	$\Delta H/(kJ \cdot mol^{-1})$	$\Delta G/(kJ \cdot mol^{-1})$	$\Delta S/(J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1})$
306	9.861×10^4	-93.149	-29.254	-208.78
314	3.891×10^4	-93.149	-27.591	-208.78

从表 3 中可以看出:在法莫替丁与 BSA 作用过程中, $\Delta G < 0$,说明该作用过程是一个熵增加、吉布斯自由能降低的自发过程; $\Delta H < 0$ 和 $\Delta S < 0$ 说明法莫替丁与 BSA 之间的主要相互作用为氢键和范德瓦耳斯力。

3.5 能量转移及作用距离

根据 Förster 提出的非辐射能量转移机理(FRET)可知,当满足供能体可以发出荧光,供能体的荧光光谱与受能体的吸收光谱有足够的重叠部分,且供能体和受能体的最大距离不超过 7 nm 的条件时,将发生非辐射能量转移^[34]。

能量转移效率 E 的表达式为

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

$$R_0^6 = 8.8 \times 10^{-25} (JK^2 \Phi n_1^{-4}), \quad (7)$$

式中: r 为供能体与受能体之间的距离; R_0 为转移效率为 50% 时的临界能量转移距离; n_1 为折射率,取法莫替丁的折射率为 1.33; K^2 为偶极-偶极相互的定向因子,取受能体和供能体的各向随机分布平均值的 2/3; Φ 为荧光量子产率,通常取 0.15; J 为供能体的荧光发射光谱和受能体的吸收光谱的重叠积分^[35-38]。 J 的表达式为

$$J = \frac{\sum F(\lambda) \epsilon(\lambda) \lambda^4 \Delta \lambda}{\sum F(\lambda) \Delta \lambda}, \quad (8)$$

式中 λ 为测量荧光强度和吸光度时对应的测量光的波长, $F(\lambda)$ 为供能体荧光发射光谱的荧光强度, $\epsilon(\lambda)$ 为用受能体的紫外吸收光谱测得的摩尔吸光系数^[39]。在测 BSA 的荧光发射光谱和法莫替丁的紫外吸收光谱时,

主要作用类型。当 $\Delta H > 0, \Delta S > 0$ 时,主要作用力为疏水作用力;当 $\Delta H < 0, \Delta S < 0$ 时,主要作用力为氢键和范德瓦耳斯力;当 $\Delta H < 0, \Delta S > 0$ 时,主要作用力为静电引力^[33]。当温度变化不大时,这些数据可以用下列公式求出:

$$\Delta G = -R \cdot T \cdot \ln K_A, \quad (3)$$

$$\ln(K_2/K_1) = (\Delta H/R) \cdot (1/T_1 - 1/T_2), \quad (4)$$

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S, \quad (5)$$

式中 R 为理想气体常数, ΔG 为吉布斯自由能变, T 为热力学温度。把体系中的表观结合常数对应着各自的温度代入(3)~(5)式中,即可得到各温度下对应的 $\Delta H, \Delta G, \Delta S$,见表 3。

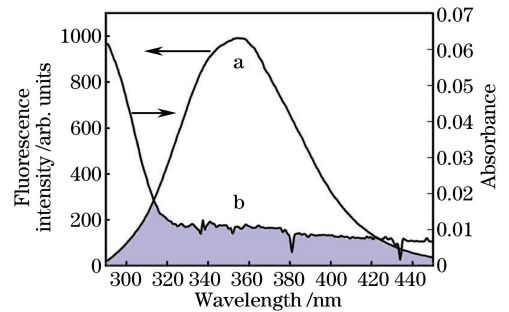


图 5 BSA 的荧光发射光谱和法莫替丁的紫外吸收光谱

Fig. 5 Fluorescence emission spectrum of BSA and ultraviolet absorption spectrum of famotidine

要保证两者溶液的物质的量浓度相等。

由图 5 可以计算得到供能体的荧光发射光谱和受能体的吸收光谱的重叠积分 $J = 3.56 \times 10^{-15} \text{ cm}^3 \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。将结果代入(6)~(7)式可以计算出临界转移距离 $R_0 = 2.15 \text{ nm}$,法莫替丁与蛋白质相互作用距离 $r = 1.25 \text{ nm}$ 。 r 不仅小于 7 nm,还满足 $0.5R_0 < r < 1.5R_0$ 这一条件,可以判断发生了非辐射能量转移^[40]。

4 结论

采用荧光光谱分析法对法莫替丁-BSA 系统的相互作用机制、作用力类型进行了定性分析。根据研究结果可知:法莫替丁对 BSA 的荧光猝灭类型为静态猝灭,两者之间的作用力主要是氢键和范德瓦耳斯力;依据双对数模型定量计算出结合位点数和不同温度下的表观结合常数 K_A ,根据 Förster 非辐

射能量转移理论可计算出法莫替丁与 BSA 的相互作用距离为 1.25 nm。

参 考 文 献

- [1] Huang S S, Lu M Q, Li B, *et al.* Real-time detection on the expression of soluble protein and inclusion body in the recombinant *Escherichia coli* with laser tweezers Raman spectroscopy[J]. Chinese Journal of Lasers, 2014, 41(12): 1215003.
黄庶识, 卢明倩, 李冰, 等. 重组大肠杆菌表达可溶性蛋白和包涵体过程的拉曼光谱实时分析[J]. 中国激光, 2014, 41(12): 1215003.
- [2] Wu M C, Jin B Q, Chen X M, *et al.* Synchronous fluorescence spectra study on changes in metmyoglobin under ultraviolet irradiation[J]. Laser & Optoelectronics Progress, 2013, 50(5): 053001.
吴名草, 金邦荃, 陈许明, 等. 紫外照射下高铁肌红蛋白变化的同步荧光光谱谱认[J]. 激光与光电子学进展, 2013, 50(5): 053001.
- [3] Guo B, Li C. Progress in research and evaluation on drug plasma protein binding in pharmacology [J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2005, 10(3): 241-253.
郭宾, 李川. 药物与血浆蛋白结合的药理学基础及其研究进展[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2005, 10(3): 241-253.
- [4] Cao T W, Yang J D, Wu X F, *et al.* Spectrophotometric study on the interaction between ranitidine and bovine serum album [J]. Chemical Research and Application, 2009, 21(9): 1255-1259.
曹团武, 杨季冬, 吴兴发, 等. 光谱法研究雷尼替丁与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 化学研究与应用, 2009, 21(9): 1255-1259.
- [5] Kang X Z, Li J Q. Study on the binding interaction of azathioprine with bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy [J]. Journal of Yunnan Normal University (Natural Sciences Edition), 2008, 28(6): 36-40.
康旭珍, 李建晴. 硫唑嘌呤与牛血清白蛋白作用的荧光光谱研究[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2008, 28(6): 36-40.
- [6] Cao T W, Y J D, Cai S B. Interaction between carbamazepine and bovine serum album [J]. West China Journal of Pharmaceutical Sciences, 2008, 23(4): 419-421.
曹团武, 杨季冬, 蔡思彬. 卡马西平与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 华西药理学杂志, 2008, 23(4): 419-421.
- [7] Dong C Y, Xu J, Zhou S S, *et al.* Spectroscopic and molecular modeling studies on binding of fleroxacin with human serum albumin [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2017, 37(1): 327-332.
董澄宇, 徐佳, 周珊珊, 等. 多光谱法和分子模拟技术研究氟罗沙星与人血清白蛋白的相互作用[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(1): 327-332.
- [8] Deng F Y, Hu T Y, Zhou S S, *et al.* Characterization of the interaction between Acetylisovaleryltylosin Tartrate and bovine serum albumin without or with Zn^{2+} and Cu^{2+} by spectroscopic analysis[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2016, 36(7): 2351-2357.
邓凤玉, 胡涛英, 周珊珊, 等. 光谱法研究酒石酸乙酰异戊酰泰乐菌素与牛血清白蛋白的相互作用及 Zn^{2+} , Cu^{2+} 的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(7): 2351-2357.
- [9] Qin Z D, Xu X T, Zhang Z Z, *et al.* Real-time analysis of blood *in vivo* injected with nitroglycerin using Raman spectroscopy [J]. Acta Optica Sinica, 2014, 34(1): 0130001.
覃宗定, 许雪棠, 张枝芝, 等. 基于拉曼光谱的硝酸甘油对活体血液作用的实时分析[J]. 光学学报, 2014, 34(1): 0130001.
- [10] Wu Y H, Han Z B, Ma J Z, *et al.* Intermolecular interactions between cytosine and bovine serum albumin: A synchronous fluorescence spectroscopic analysis and molecular docking research [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2016, 36(3): 765-769.
吴雨杭, 韩忠保, 马嘉泽, 等. 同步荧光光谱法结合分子对接研究金雀花碱与牛血清白蛋白间相互作用[J]. 光谱学与光谱分析, 2016, 36(3): 765-769.
- [11] Luo M, Zheng L Y, Liu J J, *et al.* Progress of study on interaction between inhibitor of gastric acid secretion[J]. Evaluation and Analysis of Drug-Use in Hospitals of China, 2014, 4(1): 94-96.
罗密, 郑丽云, 刘节君, 等. 胃酸分泌抑制剂相互作用研究进展[J]. 中国医院用药评价与分析, 2014, 14(1): 94-96.
- [12] He X T. Study on famotidine gastric bioadhesive microspheres [D]. Jinan: Shandong University, 2014.
贺秀婷. 法莫替丁胃内黏附微球的研究[D]. 济南: 山东大学, 2014.
- [13] Li J L, Deng J X. Clinical observation of domperidone and famotidine in the treatment of senile chronic superficial gastritis[J]. Clinical Research and

- Practice, 2016, 1(26): 66-67.
- 李建玲, 邓军喜. 老年慢性浅表性胃炎采用多潘立酮和法莫替丁治疗的临床观察[J]. 临床医学研究与实践, 2016, 1(26): 66-67.
- [14] Xu J G, Wang Z B. Fluorescence analysis [M]. Beijing: Science Press, 2006.
- 许金钩, 王尊本. 荧光分析法[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [15] Bolli A, Marino M, Rimbach G, *et al.* Flavonoid binding to human serum albumin [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2010, 398(3): 444-449.
- [16] Wu G H, Wang C H. Study on the interaction of Pb^{2+} and bovine serum albumin by fluorescence[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2005, 25(2): 246-248.
- 吴根华, 汪春华. 荧光法研究 Pb^{2+} 与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(2): 246-248.
- [17] Li C Y, Ruan G Y, Shan L, *et al.* Interaction of pentalysine β -carbonyl-phthalocyanine zinc with bovine serum albumin: Two methods[J]. Journal of Fujian Medical University, 2010, 44(4): 244-248.
- 李春艳, 阮冠宇, 单丽, 等. 两种方法研究新型光敏剂五聚赖氨酸-2-羧基酞菁锌与牛血清白蛋白相互作用[J]. 福建医科大学学报, 2010, 44(4): 244-248.
- [18] Ju P. Synthesis of semiconductor nanomaterials and their toxicological effects and photocatalytic degradation of pollutants [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2012.
- 鞠鹏. 半导体纳米材料的合成及其毒理作用和光电催化降解污染物的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012.
- [19] He L J, Huo C X, Yang C L, *et al.* Fluorescence spectrometric study of the interaction between gypenoside and bovine serum albumin[J]. Chemical Research, 2012, 23(1): 67-70.
- 何丽君, 霍彩霞, 杨彩玲, 等. 绞股蓝皂苷与牛血清白蛋白相互作用的荧光光谱研究[J]. 化学研究, 2012, 23(1): 67-70.
- [20] Dong L H. Study on the interaction of plant growth regulators and biomolecules and its application[D]. Jinan: Shandong University, 2008.
- 董丽红. 植物生长调节剂与生物大分子相互作用光谱研究及其分析应用[D]. 济南: 山东大学, 2008.
- [21] Zhang G W, Zhao N, Wang L. Fluorescence spectrometric studies on the binding of puerarin to human serum albumin using warfarin, ibuprofen and digitoxin as site markers with the aid of chemometrics [J]. Journal of Luminescence, 2011, 131(12): 2716-2724.
- [22] Deng F Z, Chen L L, Tang X Q. Interaction of rare earth samarium ion with human serum albumin[J]. Chinese Journal of Health Laboratory Technology, 2011, 21(1): 85-86.
- 邓凡政, 陈琳琳, 汤秀琴. 稀土钐离子与人血清白蛋白的相互作用[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(1): 85-86.
- [23] Wang Y F, Chen L L, Deng F Z. Study on interaction between iron (III) and pepsin in ionic liquid aqueous two-phase [J]. Applied Chemical Industry, 2011, 40(12): 2116-2118.
- 王玉峰, 陈琳琳, 邓凡政. 离子液体双水相中铁(III)与胃蛋白酶作用研究[J]. 应用化工, 2011, 40(12): 2116-2118.
- [24] Jia W T. Study on the interaction between flavonoids and serum albumin [D]. Jinan: Shandong Normal University, 2012.
- 贾万腾. 黄酮类活性成分与血清白蛋白相互作用的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2012.
- [25] Zhang G W, Que Q M, Pan J H. Study on the recognition between alpinetin and calf thymus DNA [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2008, 28(8): 1910-1913.
- 张国文, 阙青民, 潘军辉. 山姜素与脱氧核糖核酸的相互识别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(8): 1910-1913.
- [26] Zhu L H, Tang C, Yang G Z, *et al.* Study on the interaction of conjugates of oleanolic acid derivatives-chalcones with α -glucosidase [J]. Journal of Huazhong Normal University (Natural Sciences Edition), 2013, 47(2): 204-208.
- 朱林卉, 唐初, 杨光忠, 等. 齐墩果酸衍生物与查耳酮的缀合物和 α -葡萄糖苷酶的相互作用研究[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 2013, 47(2): 204-208.
- [27] Ma X W, Li Z P, Li J Q, *et al.* Study on the binding interaction of azathioprine and 6-mercaptopurine with bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy [J]. Journal of Analytical Science, 2008, 24(4): 399-403.
- 马旭文, 李忠平, 李建晴, 等. 硫唑嘌呤和巯嘌呤与牛血清白蛋白作用的荧光光谱研究[J]. 分析科学学报, 2008, 24(4): 399-403.
- [28] Wang T. The study of interaction between rare earth ion and antibiotic drug complex and its application in life science research [D]. Jinan: Shandong Normal

University, 2006.

王婷. 稀土离子与抗生素类药物的相互作用及其在生命科学研究中的应用[D]. 济南: 山东师范大学, 2006.

- [29] Wang J. Molecular spectrophotometry was used to study the reaction mechanism of certain edible synthetic pigments and drugs and proteins [D]. Baoding: Hebei University, 2011.

王晶. 分子光谱法研究某些食用合成色素及药物与蛋白结合的反应机理[D]. 保定: 河北大学, 2011.

- [30] Peng Y P. Preparation characterization of nano-immune microspheres and their application in immunochromatography [J]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013.

彭运平. 纳米免疫微球的制备、表征及在免疫层析检测中的应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.

- [31] Zhang Y, Zhang G Z, Wang Y M, *et al.* Studies of interaction of Mitomycin C and serum albumin by spectrum method[J]. Journal of Analytical Science, 2000, 16(6): 445-449.

张勇, 张贵珠, 王月梅, 等. 光谱法研究丝裂霉素、血清白蛋白以及金属离子间的相互作用[J]. 分析科学学报, 2000, 16(6): 445-449.

- [32] Ross P D, Subramanian S. Thermodynamics of protein association reactions: Forces contributing to stability[J]. Biochemistry, 1981, 20(11): 3096-3102.

- [33] Wu Q H, Wang C, Wang Z, *et al.* Study on the interaction of nimodipine and bovine serum albumin by fluorescence quenching method[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2007, 27(11): 2317-2320.

吴秋华, 王春, 王志, 等. 应用荧光猝灭法研究尼莫地平与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(11): 2317-2320.

- [34] Förster T. Intermolecular energy transference and fluorescence[J]. Annals of Physics, 1948, 2: 55-75.

- [35] Zhang L N, Chen X, Xia Y, *et al.* Study on interaction mechanism between meso-tetra-(4-hydroxyphenyl)-Zn porphyrin and bovine serum

albumin by fluorescence method [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2009, 29(3): 773-776.

张丽娜, 陈欣, 夏阳, 等. 荧光光谱法研究四苯基-锌金属卟啉与蛋白质的相互作用机理[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(3): 773-776.

- [36] Wu G K, Li Y, Yan C N. Studies on the binding reaction features between neutral red and bovine serum albumin [J]. Journal of Yangtze University (Natural Science Edition), 2009, 6(3): 21-25.

吴刚珂, 李杨, 颜承农. 中性红与牛血清白蛋白相互作用特征研究[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2009, 6(3): 21-25.

- [37] Wang Y H, Wu G K, Yan C N. Study on the action features between alizarin-violet and bovine serum albumin by fluorescence spectrophotometry [J]. Journal of Yangtze University (Natural Science Edition), 2009, 6(4): 25-29.

汪永红, 吴刚珂, 颜承农. 茜素紫与牛血清白蛋白相互作用特征研究[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2009, 6(4): 25-29.

- [38] Yang H. The interaction between organic small molecules and proteins is studied by spectroscopy and molecular simulation[D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2011.

杨华. 光谱及分子模拟法研究有机小分子与蛋白质的相互作用[D]. 新乡: 河南师范大学, 2011.

- [39] Yang H, Li J, Feng S L, *et al.* Study on the interaction between hybrids of pyrimidine nucleoside pyrano [3, 2-c] pyridone and serum albumin by spectrometry and molecular modeling methods [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2011, 30(8): 1-5.

杨华, 李俊, 冯素玲, 等. 吡喃并[3, 2-c]吡啶酮-嘧啶核苷杂化体与白蛋白相互作用的光谱和分子模拟研究[J]. 分析实验室, 2011, 30(8): 1-5.

- [40] Li S, Huang K, Zhong M, *et al.* Comparative studies on the interaction of caffeic acid, chlorogenic acid and ferulic acid with bovine serum albumin[J]. Spectrochimica Acta Part A, 2010, 77(3): 680-686.