

米格列奈钙与牛血清白蛋白相互作用的光谱研究

张啸天¹, 张 林¹, 朱卫华¹, 俞 波²

¹河海大学理学院, 江苏 南京 211100;

²南京航空航天大学理学院, 江苏 南京 210016

摘要 采用荧光光谱法、紫外可见吸收光谱法以及同步荧光光谱法研究了米格列奈钙与牛血清白蛋白(BSA)之间的相互作用。实验结果表明,米格列奈钙对牛血清白蛋白的荧光有较为明显的猝灭作用,其猝灭机制为动态猝灭,遵循 Stern-Volmer 方程;根据 Förster 的非辐射能量转移理论,计算出米格列奈钙分子与牛血清白蛋白分子的结合距离为 5.461 nm;用同步荧光光谱技术探究了米格列奈钙对 BSA 构象的影响,结果发现,当激发和发射波长差为 60 nm 时,荧光峰位发生了微小的蓝移,说明 BSA 色氨酸残基附近的外围微环境受到了米格列奈钙分子的影响,极性减弱,BSA 的疏水性增强。

关键词 光谱学; 光学; 荧光猝灭; 荧光光谱; 米格列奈钙; 牛血清白蛋白; 蛋白质构象

中图分类号 O433 **文献标识码** A

doi: 10.3788/AOS201737.1130002

Study on Interaction Between Mitiglinide Calcium and Bovine Serum Albumin by Spectroscopy

Zhang Xiaotian¹, Zhang Lin¹, Zhu Weihua¹, Yu Bo²

¹ College of Science, Hohai University, Nanjing, Jiangsu 211100, China;

² College of Science, Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, Nanjing, Jiangsu 210016, China

Abstract The interaction between mitiglinide calcium and bovine serum albumin (BSA) is studied by fluorescence emission spectroscopy, UV-visible absorption spectroscopy and synchronous fluorescence spectroscopy. Experimental results show that mitiglinide calcium leads to the fluorescence quenching of BSA, and the quenching mechanism is a dynamic quenching procedure according to the Stern-Volmer equation. The binding distance between mitiglinide calcium and BSA is calculated to be about 5.461 nm based on Förster theory. The effect of mitiglinide calcium on the conformation of BSA is studied by synchronous fluorescence spectroscopy. The results show that a slight blue shift is observed when the difference between excitation wavelength and emission wavelength is 60 nm. The blue shift indicates that the peripheral microenvironment near tryptophan residue of BSA is affected by the mitiglinide calcium molecule, which makes the polarity of the microenvironment decrease and the hydrophobicity of BSA increase.

Key words spectroscopy; optics; fluorescence quenching; fluorescence spectrum; mitiglinide calcium; bovine serum albumin; protein conformation

OCIS codes 300.6450; 260.2510; 260.2160

1 引 言

蛋白质是自然界中所有生命的物质基础,是构成人体内众多细胞的基本有机物。机体内外所有的重要部分都包含蛋白质。血清白蛋白是人体血浆中含量最丰富的载体蛋白,能够结合体内的众多内源和外源性

收稿日期: 2017-06-23; **收到修改稿日期:** 2017-07-20

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(61378037)、江苏省自然科学基金(BK20150807)、中央高校基本科研业务费专项资金项目(2014B04714)、中央高校科技发展前瞻性研究专项(2017B42414)

作者简介: 张啸天(1996—),男,本科,主要从事光电检测方面的研究。E-mail: m18953757677@163.com

导师简介: 张 林(1985—),男,博士,讲师,主要从事光电检测方面的研究。E-mail: hhuzhangl@hhu.edu.cn
(通信联系人)

化合物^[1],并对这些化合物的运输及代谢起着至关重要的作用。药物进入人体后与血清白蛋白结合,在血清白蛋白的搬运作用下到达受体部位,进而产生药效。因此,研究药物小分子与血清白蛋白生物大分子之间的结合,不仅可以了解药物在体内的吸收、代谢及生效机理^[2],而且对药物的改良和新药的研发具有参考作用。

由于蛋白质中的酪氨酸残基、色氨酸残基及苯丙氨酸残基都具有特殊的光学特性,加之许多药物小分子本身或与蛋白质作用后具有光学特性^[3],因此光谱方法是研究药物与蛋白质结合机理的一种非常有效且应用广泛的方法。常见的方法有紫外-可见吸收方法^[4]、荧光光谱法^[5]、傅里叶红外光谱法^[6]、圆二色光谱法^[7]、核磁共振波谱法^[8]和拉曼光谱法^[9]。另外,还有一些非光谱的方法,如电分析化学法^[10]、高效前沿分析法^[11]及毛细管电泳法^[12]等。

米格列奈钙是组成米格列奈片的有效成分,它可以单独地用于那些采用运动疗法和饮食疗法不能有效控制高血糖的Ⅱ型糖尿病患者。文献^[13]指出,与传统的磺酰脲类药物相比,米格列奈钙具有起效快、疗效强、给药灵活、安全性高,以及耐受性好等特点,但目前尚未查到研究米格列奈钙与药物作用机理的相关文献。因此,本文根据荧光猝灭光谱、紫外-可见吸收光谱和同步荧光光谱,从不同角度探讨米格列奈钙与血清白蛋白相互作用的光谱特征。

2 实 验

2.1 仪器与试剂

实验所用仪器为 LS-55 型荧光分光光度计、UV-3600 型紫外可见分光光度计、上海江星 HH-2 型数显恒温水浴锅、上海舜宇恒平 FA2004 型电子天平(精度为 0.0001 g)、德国 Eppendorf 公司的微量移液枪(规格分别为 10,100,1000 μL)。

实验用牛血清白蛋白(BSA)的相对分子质量为 66430,纯度为 98%。准确称取适量 BSA,用含 0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 的 0.2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲溶液配制成 BSA 溶液(实验用水为二次蒸馏水),然后置于 1~4 $^{\circ}\text{C}$ 的冷藏柜中储存。当实验过程中的 BSA 溶液不足时,可取出使用。

米格列奈钙片购于正大天晴药业集团,其有效成分米格列奈的分子式为 $\text{C}_{38}\text{H}_{48}\text{N}_2\text{O}_6\text{Ca}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$,相对分子质量为 704.91。准确称取 0.1417 mg 米格列奈钙,将其溶于无水甲醇(纯度不低于 99.5%)中,配制成浓度为 1.005×10^{-5} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的米格列奈钙溶液。

2.2 实验方法

2.2.1 荧光光谱法

荧光光谱法的实验步骤如下:

1) 使用移液枪取 3 mL 浓度为 1×10^{-6} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 BSA 溶液,并将其转移到比色皿中,控制溶液温度为 24 $^{\circ}\text{C}$ (297 K)。根据荧光光谱仪的荧光扫描量程,设置激发狭缝的宽度为 5 nm,发射狭缝的宽度为 5 nm,扫描速度为 60 $\text{nm}\cdot\text{min}^{-1}$ 。采用波长为 285 nm 的激发光在 290~450 nm 范围内扫描,得到荧光光谱。

2) 用移液枪向比色皿中逐次加入 5 μL 浓度为 1.005×10^{-5} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 米格列奈钙溶液,测量其荧光猝灭光谱^[14]。

3) 采用水浴法控制温度为 35 $^{\circ}\text{C}$ (308 K),重复以上实验步骤。

2.2.2 紫外可见吸收光谱与荧光光谱法

为了计算结合距离,取浓度为 1×10^{-6} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的米格列奈钙溶液,在 290~450 nm 波长范围内进行扫描,得到紫外可见吸收光谱。取浓度为 1×10^{-6} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 BSA 溶液,将 LS-55 型荧光光谱仪的激发波长设为 285 nm,设置激发和发射狭缝均为 5 nm,在 290~450 nm 波长范围扫描 BSA 溶液,得到该溶液的荧光光谱。在同一个坐标系下计算 2 种光谱的重叠面积。

2.2.3 同步荧光光谱法

取 3 mL 浓度为 1×10^{-6} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 BSA 溶液,逐滴加入 1×10^{-4} $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的米格列奈钙溶液,设定激发和发射波长差 $\Delta\lambda$ 分别为 15 nm 和 60 nm,在 250~330 nm 波长范围内测量其同步荧光光谱。

3 结果与讨论

3.1 荧光猝灭光谱

实验测出米格列奈钙对 BSA 的荧光猝灭光谱如图 1 所示。其中,牛血清白蛋白的浓度为 $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,米格列奈钙溶液的体积为 $V_{\text{MC}} = 0, 5, 10, 15, 20, 25 \text{ } \mu\text{L} (0 \rightarrow 5)$; 实验环境温度 $T = 299 \text{ K}$, 溶液的 pH 为 7.4, 激发波长 $\lambda_{\text{ex}} = 285 \text{ nm}$ 。

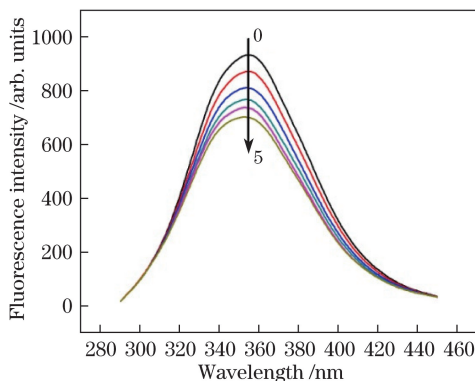


图 1 米格列奈钙对 BSA 的猝灭光谱

Fig. 1 Quenching spectra of mitiglinide calcium to BSA

由图 1 可以看出,随着米格列奈钙溶液浓度增加,体系的荧光强度逐渐减小,出现了典型的荧光猝灭现象。由于每次滴加的米格列奈钙溶液相对于上一次只增加了 $5 \text{ } \mu\text{L}$,这对于 3 mL 的 BSA 溶液来说可以忽略,故而可以忽略因加入米格列奈钙溶液产生稀释效果而导致的荧光强度的减小。

3.2 荧光猝灭机理

荧光猝灭是指荧光物质分子与溶剂分子之间发生的导致荧光强度或相关激发峰位变化,亦或荧光峰位变化的物理、化学作用过程^[15]。

一般情况下,可根据猝灭速率常数随温度的变化将荧光猝灭类型分为动态猝灭与静态猝灭^[16]。如果荧光猝灭是由荧光分子与猝灭剂分子的激发态分子相互碰撞而导致的,那么这种猝灭类型称为动态猝灭。猝灭过程遵循 Stern-Volmer 方程^[17]。

$$F_0/F = 1 + k_q \tau_0 c_q = 1 + k_{sv} c_q, \quad (1)$$

式中 F_0 和 F 分别为未加入和加入猝灭剂时 BSA 的荧光强度; k_{sv} 为动态猝灭速率常数^[18],其为双分子猝灭速率常数与单分子衰变速率常数的比值; τ_0 为不加入猝灭剂时荧光分子的平均寿命,对于大多数生物分子, $\tau_0 \approx 10^{-8} \text{ s}$; k_q 为双分子猝灭速率常数; c_q 为猝灭剂米格列奈钙的浓度^[19]。

对于动态猝灭来说,升高温度会使激发单重态的荧光分子与猝灭剂分子之间的相互碰撞更加剧烈,激发单重态的荧光分子以无辐射跃迁的方式回到基态的速率加快,导致猝灭速率常数随温度升高而增大。因此,如果猝灭速率常数随温度升高而增大,那么荧光猝灭类型为动态猝灭;如果猝灭速率常数随温度升高而减小,那么荧光猝灭类型为静态猝灭。

在温度为 297 K 和 308 K 时,加入米格列奈钙后 BSA 荧光强度的变化如图 2 所示。其中,牛血清白蛋白的浓度为 $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,溶液的 pH 为 7.4,激发波长 $\lambda_{\text{ex}} = 285 \text{ nm}$ 。

通过线性拟合得到了 Stern-Volmer 线性方程、拟合优度 R^2 和猝灭速率常数 k_q ,如表 1 所示。根据 k_q 随温度的变化可以判断出荧光猝灭的机理。

表 1 Stern-Volmer 拟合方程、拟合优度 R^2 及猝灭速率常数 k_q

Table 1 Fitting equation, fitting degree R^2 and quenching rate constant k_q

T / K	Stern-Volmer linear equation	R^2	$k_q / (10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1})$
297	$F_0/F = 0.9544 + 8.78 \times 10^5 c_q$	0.97538	8.78
308	$F_0/F = 0.94165 + 1.304 \times 10^6 c_q$	0.99399	13.04

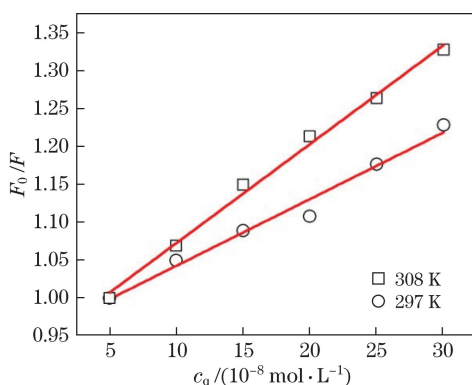


图 2 加入米格列奈钙后 BSA 的 Stern-Volmer 猝灭曲线

Fig. 2 Stern-Volmer quenching curves of BSA after adding mitiglinide calcium

对图 2 和表 1 进行分析后可以发现, 荧光强度比 F_0/F 随着猝灭剂米格列奈钙浓度 c_q 的增加呈线性变化, 说明米格列奈钙与 BSA 的相互作用存在单一的猝灭类型。温度升高可以使荧光体和荧光猝灭分子之间的有效碰撞更加剧烈, 从而导致扩散系数增大, 使 k_{sv} 随温度升高而增大^[20]。由图 2 可知, 直线的斜率随着温度升高而明显增大 (k_{sv} 增大), 这是典型的动态猝灭特征。所以, 米格列奈钙对 BSA 的猝灭是由米格列奈钙分子与荧光 BSA 分子间相互碰撞而引起的动态猝灭。

3.3 结合距离的计算

由 Förster 提出的非辐射能量转移理论^[21]可以知道, 发生非辐射能量转移从而产生荧光猝灭现象的条件有 3 个: 1) 供能体(血清白蛋白)可以发出荧光; 2) 供能体发射荧光光谱与受能体(药物米格列奈钙)的吸收光谱有足够的重叠部分; 3) 供能体和受能体的最大距离不超过 7 nm^[22]。

能量转移效率 E 的计算公式为

$$E = 1 - \frac{F}{F_0} = \frac{R_0^6}{(R_0^6 + r^6)}, \quad (2)$$

$$R_0^6 = 8.8 \times 10^{-25} JK^2 \Phi n^{-4}, \quad (3)$$

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

式中 R_0 为临界能量转移距离, 即能量转移效率为 50% 时的距离; r 为供能体和受能体之间的结合距离; J 为供能体荧光发射光谱和受能体吸收光谱重叠部分的积分^[23], 单位为 $\text{cm}^3 \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$; K^2 为偶极空间的取向因子, 取给体与供体各向随机分布平均值的 2/3; Φ 为血清白蛋白质的荧光量子产率, 通常取色氨酸的量子产率, 即 $\Phi = 0.15$; n 为药物与血清白蛋白混合溶液的折射率, 实验中以二次蒸馏水作为溶剂, 混合溶液的平均折射率 $n = 1.336$; $F(\lambda)$ 为血清白蛋白在波长 λ 处的荧光强度; $\epsilon(\lambda)$ 为药物在波长 λ 处的摩尔吸光系数, 可由紫外-可见分光光度计测出; $\Delta \lambda$ 为激发和发射波长差。

通过图 3 中的实验数据, 采用离散积分的方式计算(4)式中的 J ; 然后将 J 代入(3)式计算 R_0^6 , 最后将 R_0^6 的值代入(2)式, 就可计算出供能体血清白蛋白和受能体米格列奈钙的结合距离 r 。通过以上方法可计算得到米格列奈钙的重叠积分 $J = 9.036 \times 10^{-14} \text{ cm}^3 \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 进而求得 $R_0 = 3.694 \text{ nm}$, 最终可得米格列奈钙分子与牛血清白蛋白分子的结合距离 $r = 5.461 \text{ nm}$ 。可见, 供能体与受能体满足了 Förster 非辐射能量转移理论中的 3 个条件, 发生了非辐射能量转移, 从而产生了荧光猝灭。

3.4 米格列奈钙对 BSA 构象的影响

在周围环境的影响下, 氨基酸残基的最大发射波长会发生蓝移或者红移。当固定激发波长和发射波长的差值 $\Delta \lambda$ 为 15 nm 和 60 nm 时, 对应的同步荧光光谱分别体现了酪氨酸残基和色氨酸残基的光谱特性^[24]。因此, 根据氨基酸残基发射峰峰位的蓝移或红移, 可以判断药物对蛋白质构象的影响。

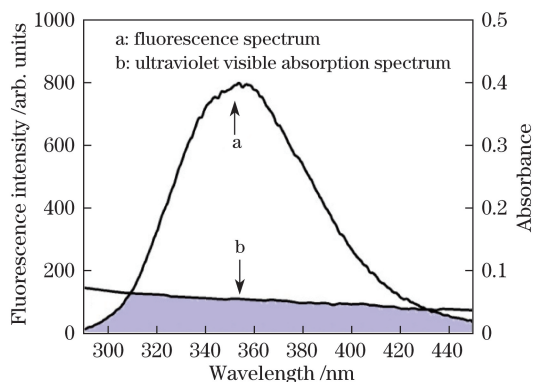


图 3 BSA 的荧光光谱和米格列奈钙的紫外可见吸收光谱

Fig. 3 Fluorescence spectrum of BSA and ultraviolet visible absorption spectrum of mitiglinide calcium

图 4(a)为米格列奈钙在 $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 时的同步荧光光谱,图 4(b)为米格列奈钙在 $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ 时的同步荧光光谱,牛血清白蛋白的浓度均为 $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。从图 4(a)可以看出,当 $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 时,最大发射波长几乎没有改变,说明米格列奈钙几乎没有改变 BSA 酪氨酸残基附近的疏水环境,蛋白质酪氨酸残基附近的构象没有被影响^[25]。从图 4(b)可以看出,当 $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ 时,同步荧光光谱的荧光峰峰位随着米格列奈钙浓度的增加出现了微小的蓝移。这一实验结果说明 BSA 色氨酸残基附近的外围微环境受到了米格列奈钙分子的影响,使外部微环境的极性减弱,增强了 BSA 的疏水性,减小了肽链的伸展程度,对 BSA 的构象产生了一定影响^[26]。

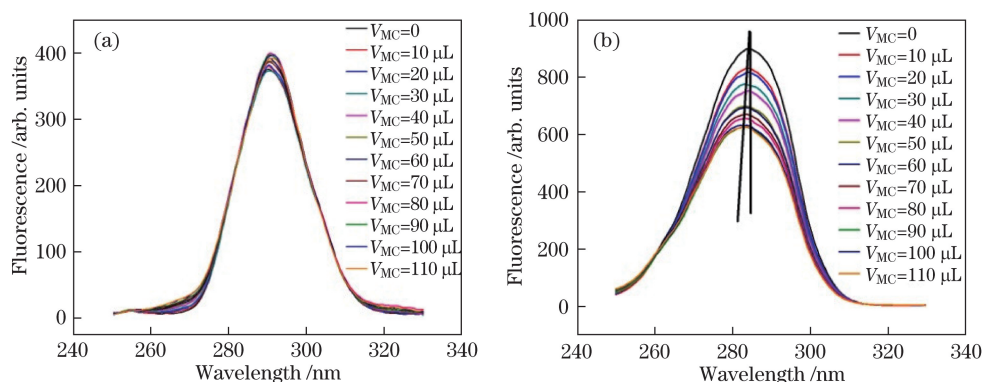


图 4 不同波长差下米格列奈钙的同步荧光光谱。(a) $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$; (b) $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$

Fig. 4 Synchronous fluorescence spectra of mitiglinide calcium at different wavelength differences.

(a) $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$; (b) $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$

4 结 论

利用光谱技术研究了米格列奈钙-BSA 系统的相互作用机理。实验结果表明,米格列奈钙对牛血清白蛋白的荧光猝灭作用较为明显,其猝灭方式为动态猝灭。在 $24 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $35 \text{ }^\circ\text{C}$ 时,米格列奈钙对牛血清白蛋白荧光的猝灭速率常数分别为 $8.78 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 和 $13.04 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。根据 Förster 提出的非辐射能量转移理论,米格列奈钙与 BSA 的结合距离为 5.461 nm 。由同步荧光光谱发现,米格列奈钙影响了 BSA 色氨酸残基附近外围的微环境,使肽链的伸展程度有所减小。本实验结果为药物的合理使用提供了参考,同时也为糖尿病新药的研发和临床应用提供了参考。

参 考 文 献

- [1] Wu Qiuhua, Wang Dongyue, Zhou Xin, *et al.* Study on the interaction between daidzein and human serum albumin[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2009, 29(7): 1911-1914.
 吴秋华, 王东跃, 周欣, 等. 大豆苷元与人血清白蛋白的相互作用研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(7): 1911-1914.

- [2] Zhou Huifeng, Bi Shuyun, Wang Yu, *et al.* Investigation on the interaction between cryptotanshinone and human serum albumin by multi-spectral technologies[J]. *Physical Testing and Chemical Analysis-Chemical Analysis*, 2016, 52(3): 318-322.
周慧凤, 毕淑云, 王瑜, 等. 多光谱技术研究隐丹参酮与人血清白蛋白的相互作用[J]. *理化检验-化学分册*, 2016, 52(3): 318-322.
- [3] Wang Anping. Study on the interaction between some flavonoids active components in natural products and proteins[D]. Nanchang: Nanchang University, 2007: 17-25.
王安萍. 几种天然药物黄酮类活性成分与蛋白质相互作用的研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2007: 17-25.
- [4] Wu Xiaoyan, Zhao Lan, Li Linlin, *et al.* Characterization of the effect of anion on the complex of oat β -glucan and Congo red with UV-Vis absorption spectroscopy[J]. *Spectroscopy and Spectral analysis*, 2016, 36(11): 3597-3601.
吴小燕, 赵兰, 李琳琳, 等. 紫外-可见吸收光谱法研究阴离子对刚果红/ β -葡聚糖络合物的影响[J]. *光谱学与光谱分析*, 2016, 36(11): 3597-3601.
- [5] Zhang Miao, Zou Ye, Wang Daoying, *et al.* A study on the factors influencing the interaction of AMP with actomyosin by fluorophotometry[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2016, 39(6): 1049-1054.
张淼, 邹烨, 王道营, 等. 基于荧光光谱法的 AMP 与肌动球蛋白相互作用影响因素研究[J]. *南京农业大学学报*, 2016, 39(6): 1049-1054.
- [6] Zhou Ye, Li Peifu, Zhang Qingwei, *et al.* The research on the identification of some *polygonatum* crude drugs by Fourier transform infrared spectrometry[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2013, 33(7): 1791-1795.
周晔, 李佩孚, 张庆伟, 等. 傅里叶红外光谱法鉴别部分黄精属生药的研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2013, 33(7): 1791-1795.
- [7] Marco P, Carlo F, Filomena C, *et al.* Tocainide analogues binding to human serum albumin: a HPLAC and circular dichroism study[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2010, 53(2): 179-185.
- [8] Bhattacharya A A, Curry S, Franks N P. Binding of the general anesthetics propofol and halothane to human serum albumin-high resolution crystal structures[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2000, 275(49): 38731-38738.
- [9] Qin Zongding, Xu Xuetao, Zhang Zhizhi, *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, Ji X B, Hu S S. Studies on electrochemical oxidation of azithromycin and its interaction with bovine serum albumin[J]. *Bioelectrochemistry*, 2004, 64(1): 91-97.
- [11] Bao Lingqun. The application of high performance frontal analysis to the study of drug-protein binding[J]. *Progress in Pharmaceutical Sciences*, 2001, 25(2): 84-87.
暴领群. 高效前沿分析法应用于药物与蛋白结合研究[J]. *药学进展*, 2001, 25(2): 84-87.
- [12] Chernovyants M S, Dolinkin A O, Chernyshev A V, *et al.* Interaction of antithyroid drugs with bovine serum albumin: electrophoretic and fluorimetric study[J]. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2010, 99(3): 1567-1573.
- [13] 牛晓方, 郭瑞臣. 新型 II 型糖尿病治疗药——米格列奈[J]. *齐鲁药事*, 2007, 26(11): 700-702.
- [14] Wang Shutao, Chen Dongying, Wei Meng, *et al.* Application of fluorescence spectroscopy and PSO-BP neural network in the detection of potassium sorbate concentration[J]. *Chinese J Lasers*, 2015, 42(5): 0515004.
王书涛, 陈东营, 魏蒙, 等. 荧光光谱法和 PSO-BP 神经网络在山梨酸钾浓度检测中的应用[J]. *中国激光*, 2015, 42(5): 0515004.
- [15] Lu Congwen. Research on the interaction of drugs and protein macromolecule by spectroscopic methods[D]. Nanjing: Nanjing University of Aeronautics and Astronautics, 2016: 17-19.
陆从文. 药物与蛋白质大分子相互作用的光谱特性研究[D]. 南京: 南京航空航天大学, 2016: 17-19.
- [16] Zhang Guowen, Wang Anping, Jiang Ting, *et al.* Studies on the interaction between hesperidin and bovine serum albumin by fluorescence spectrophotometry[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2008, 27(1): 1-4.
张国文, 王安萍, 蒋婷, 等. 荧光光谱法研究橙皮苷与牛血清白蛋白相互作用特征[J]. *分析实验室*, 2008, 27(1): 1-4.
- [17] Yang Hua. Spectral and molecular modeling method studies on the interaction of small organic molecules and proteins[D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2011: 31-33.
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: 31-33.
- [18] Zhao Fen, Jiang Zhongwei, Feng Wenlin, *et al.* Study on H₂S gas sensor based on fluorescence quenching of ZnS:Eu²⁺ gas-sensitive film[J]. *Acta Optica Sinica*, 2015, 35(9): 0916001.

- 赵芬, 江中伟, 冯文林, 等. 基于 ZnS:Eu²⁺ 气敏薄膜的荧光猝灭型硫化氢气体传感器研究[J]. 光学学报, 2015, 35(9): 0916001.
- [19] Deng Shixing, Yang Jidong. Study on the interaction between phenosafranin and bovine serum albumins by fluorescence spectrophotometry[J]. Journal of Instrumental Analysis, 2007, 26(3): 360-364.
邓世星, 杨季冬. 荧光法研究酚藏花红与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 分析测试学报, 2007, 26(3): 360-364.
- [20] Wang Li, Li Xiaoling, Zhang Xiaoping, *et al.* Spectroscopic study on the interaction between cefepime dihydrochloride and trypsin[J]. Chemical Research and Application, 2011, 23(12): 1633-1638.
王莉, 李晓玲, 张晓平, 等. 盐酸头孢吡肟与胰蛋白酶相互作用的光谱研究[J]. 化学研究与应用, 2011, 23(12): 1633-1638.
- [21] Chai Xiuhang, Bi Yanlan, Peng Dan, *et al.* Interaction of gossypol and its oxide with bovine serum albumin[J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(6): 36-43.
柴秀航, 毕艳兰, 彭丹, 等. 棉酚及其氧化物与牛血清蛋白相互作用的研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(6): 36-43.
- [22] Wang T H, Zhao Z M, Wei B Z, *et al.* Spectroscopic investigations on the binding of dibazol to bovine serum albumin[J]. Journal of Molecular Structure, 2010, 970(1/2/3): 128-133.
- [23] Li Yue, Gu Yu, He Jia. Study on interaction between myricetin and bovine serum albumin by spectroscopy and molecular modeling[J]. Acta Chimica Sinica, 2012, 70(2): 143-150.
李悦, 谷雨, 何佳, 等. 光谱法与分子模拟技术研究杨梅素与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 化学学报, 2012, 70(2): 143-150.
- [24] Cao Tuanwu, Yang Jidong, Cai Sibin. Interaction between carbamazepine and bovine serum albumin[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.
- [25] Lu Congwen, Lan Xiufeng, Zhang Lin, *et al.* Interaction between ebastine and bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy[J]. Acta Photonica Sinica, 2015, 44(10): 70-75.
陆从文, 兰秀凤, 张林, 等. 依巴斯汀与牛血清蛋白相互作用的荧光光谱研究[J]. 光子学报, 2015, 44(10): 70-75.
- [26] Zhang Guowen, Wang Anping, Jiang Ting. Studies on the interaction between alpinetin and human serum albumin by fluorescence spectroscopy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2008, 28(4): 908-912.
张国文, 王安萍, 蒋婷. 山姜素与人血清白蛋白相互作用的荧光光谱法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2008, 28(4): 908-912.