

研究简报

胡椒碱与牛血清白蛋白的作用 及 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 影响的研究

领 小, 博日吉汗格日勒图, 娜日苏, 昭日格图, 王艳丽, 桂 香

(内蒙古大学 高分子化学及蒙药研究所, 内蒙古 呼和浩特 010021)

摘 要: 采用荧光光谱及紫外光谱法研究了胡椒碱与牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 的相互作用。实验结果表明: 胡椒碱与 BSA 形成基态复合物从而猝灭 BSA 的内源性荧光, 猝灭原因主要为静态猝灭和非辐射能量转移作用。胡椒碱对 BSA 的猝灭速率常数 K_q 为 $7.31 \times 10^{12} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (25 $^{\circ}\text{C}$) 和 $7.20 \times 10^{12} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (37 $^{\circ}\text{C}$), 胡椒碱与 BSA 的结合常数 K_A 为 $1.02 \times 10^7 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ (25 $^{\circ}\text{C}$) 和 $1.11 \times 10^7 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ (37 $^{\circ}\text{C}$), 结合位点数 n 为 1.45 (25 $^{\circ}\text{C}$) 和 1.46 (37 $^{\circ}\text{C}$)。根据 Förster 偶极-偶极非辐射能量转移理论得到结合距离 r 为 3.28 nm (25 $^{\circ}\text{C}$) 和 3.30 nm (37 $^{\circ}\text{C}$)。通过热力学参数的计算, 确定胡椒碱与牛血清白蛋白的相互作用是一个熵增加和吉布斯自由能降低的自发过程, 主要作用力为疏水作用力。同步荧光光谱表明, 胡椒碱与 BSA 的相互作用没有引起 BSA 构象的变化。讨论了共存金属离子 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 对胡椒碱与 BSA 相互作用的影响。
关键词: 胡椒碱; 牛血清白蛋白; Cu^{2+} ; Fe^{3+} ; 荧光光谱法

中图分类号: O657.39; R963 文献标识码: A 文章编号: 1004-4957(2008)10-1049-05

Studies on Interaction between Piperine and Bovine Serum Albumin and Effects of Cu^{2+} and Fe^{3+} Ions on the Reaction

LING Xiao, BORJIHAN Gerri-le-tu, NARI-SU, ZHAO Ri-ge-tu, WANG Yan-li, GUI Xiang
(Institute of Macromolecule Chemistry and Mongolian Medicine, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

Abstract: Interaction between piperine and bovine serum albumin (BSA) was studied using fluorescence spectroscopy (FS) and UV absorption spectroscopy. Experimental results showed that the intrinsic fluorescence of BSA was quenched by piperine molecules forming piperine-BSA complex. The mechanism of fluorescence quenching was mainly due to static quenching and non-radiation energy transfer. The quenching constants (K_q) were $7.31 \times 10^{12} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (25 $^{\circ}\text{C}$) and $7.20 \times 10^{12} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ (37 $^{\circ}\text{C}$). The apparent binding constants (K_A) and binding sites (n) of piperine-BSA complex at 25 $^{\circ}\text{C}$ were $1.02 \times 10^7 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ and 1.45, respectively, and those at 37 $^{\circ}\text{C}$ were $1.11 \times 10^7 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ and 1.46, respectively. According to the Förster theory of non-radiation energy transfer, the binding distances (r) at 25 $^{\circ}\text{C}$ and 37 $^{\circ}\text{C}$ were 3.28 nm and 3.30 nm, respectively. The process of binding was a spontaneous molecular interaction with increasing of entropy and decreasing of Gibbs free energy. Thus the interaction of piperine with BSA was driven mainly by hydrophobic force. The effect of piperine on the conformation of BSA was analyzed by synchronous fluorescence spectroscopy. The effects of Cu^{2+} and Fe^{3+} ions on the interaction of piperine with BSA were also discussed.

Key words: piperine; bovine serum albumin; Cu^{2+} ; Fe^{3+} ; fluorescence spectroscopy

药物进入人体后, 要通过血浆的储存和运输才能到达受体部位发挥药理作用^[1]。血清白蛋白是血浆中含量最丰富的重要载体蛋白, 它可逆地结合血液中的大多数内源性和外源性物质, 从而起到在体内存储和运输药物的作用^[2]。近年来, 以血清白蛋白为代表的蛋白质与中草药有效成分间的相互作用,

收稿日期: 2008-02-23; 修回日期: 2008-04-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30160103)

第一作者: 领小 (1971-), 女 (蒙古族), 内蒙古通辽人, 博士研究生

通讯作者: 博日吉汗格日勒图, Tel: 0471-4992511, E-mail: borjihhan@imu.edu.cn

已成为一个非常活跃的研究课题^[3-5], 这将有助于了解药物在体内的存在状态、运输、吸收、代谢及作用机制。而传统中蒙药复方制剂或生物体内的金属离子则会影响药物分子与蛋白的相互作用, 因此研究金属离子对药物与蛋白质相互作用的影响, 能够更全面地反映生物体内蛋白与药物相互作用的情况。

胡椒碱 (piperine) 是蒙药葶苈和胡椒等胡椒科植物的主要活性成分, 在镇痛、抗炎、抗癌等方面存在活性^[6]。胡椒碱与蛋白间相互作用的研究, 目前在国内外尚未见相关报道。本文运用荧光光谱、同步荧光光谱和紫外光谱研究了胡椒碱与牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 的相互作用, 并且进一步研究了 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 对胡椒碱与 BSA 相互作用的影响, 探讨了胡椒碱对 BSA 荧光猝灭的机理, 为胡椒碱的体内转运和药理作用的深入研究提供有用的信息和数据。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

RF-5301PC 型荧光光度仪 (日本岛津公司); 紫外分光光度计 (日本岛津公司); pH S-3C 型酸度计 (上海第一分析仪器厂); 电子恒温水浴锅 (巩义市英峪予华仪器厂) 等。

胡椒碱标准品 (中国生物制品与药品检定所提供) 的 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 95% (体积分数) 乙醇溶液; 牛血清白蛋白 (BSA, 纯度 99.0%, 华美生物工程公司提供) 的 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液; $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ pH 7.4 的 Tris-HCl 缓冲溶液 (含有 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl); 一定浓度的 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 溶液; 其它试剂均为分析纯, 实验用水为二次蒸馏水。

1.2 实验方法

将一定量的 BSA 与胡椒碱溶液依次加入到 10 mL 比色管中, 以 pH = 7.4 的 Tris-HCl 缓冲溶液 (含有 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaCl, 下同) 稀释至刻度, 混匀, 于恒温水浴中恒温 30 min。移取该溶液于带有磨口塞的荧光池中, 设定激发波长为 280 nm, 扫描范围为 300 ~ 500 nm, 激发与发射狭缝宽均为 3 nm, 测定其荧光发射光谱。以 Tris-HCl 缓冲液为溶剂配制 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的胡椒碱溶液, 恒温测定其在 300 ~ 500 nm 的 UV 吸收光谱。

2 结果与讨论

2.1 胡椒碱对 BSA 内源性荧光的猝灭

BSA 分子中能产生荧光的氨基酸残基有色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸残基, 当激发波长为 280 nm 时, 主要是色氨酸残基发射荧光, 其最大发射波长在 343 nm 左右。配制一系列含有不同浓度的胡椒碱而 BSA 总浓度始终为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的待测溶液, 分别在 25、37 恒温 30 min, 在 300 ~ 500 nm 范围扫描发射光谱, 结果见图 1。由图可见, BSA 在 343 nm 左右有较强的荧光, 而且随着溶液中胡椒碱浓度的增大 BSA 在该处的荧光强度有规律地降低。表明胡椒碱能够与 BSA 发生相互作用进而猝灭 BSA 的荧光。

荧光猝灭过程通常有动态猝灭和静态猝灭两类^[7]。动态猝灭过程可用 Stern-Volmer 方程描述^[8]: $I_0/I_F = 1 + K_q \tau_0 Q$ = $1 + K_{SV} Q$, 式中 I_0 和 I_F 分别为不存在猝灭剂和猝灭剂浓度为 Q 时荧光体的荧光强度, K_q 为动态猝灭速率常数, 各类荧光猝灭剂对生物大分子的最大动态荧光猝灭速率常数约为 $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[9], τ_0 为无猝灭剂存在下荧光体的平均寿命, 生物大分子的荧光平均寿命取 10^{-8} s ^[9], K_{SV} 为 Stern-Volmer 动态猝灭常数。

静态猝灭遵守 Perrin 方程^[10-11]: $\ln(I_0/I_F) = K_p Q$, 式中

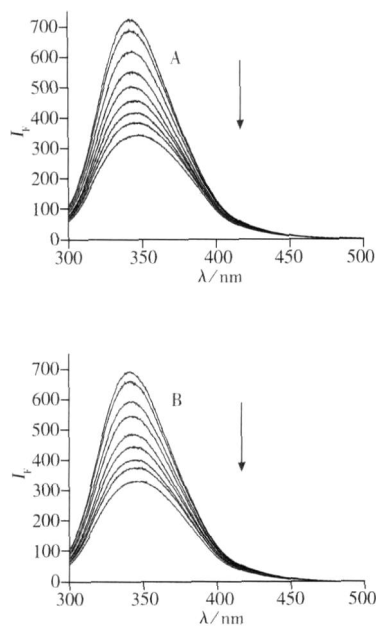


图 1 胡椒碱对 BSA 荧光光谱的影响
Fig. 1 Effect of piperine on fluorescence spectra of BSA at 25 (A) and 37 (B) $c(\text{BSA}): 1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $c(\text{piperine}): 0, 0.2 \times 10^{-5}, 0.4 \times 10^{-5}, 0.6 \times 10^{-5}, 0.8 \times 10^{-5}, 1.0 \times 10^{-5}, 1.2 \times 10^{-5}, 1.4 \times 10^{-5}$ and $1.6 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ (from up to down)

K_p 为静态猝灭常数。

假设胡椒碱对 BSA 的猝灭为动态猝灭过程, 以 I_f/I_0 对相应的 q_0 作 Stern - Volmer 曲线, 对曲线进行线性拟合, 结果显示 Stern - Volmer 曲线呈现良好的线性关系 (见表 1), 且随着温度的升高曲线斜率降低, 表明动态猝灭不是引起 BSA 荧光猝灭的主要原因。双分子猝灭速率常数 K_q 在 25 °C 时为 $7.31 \times 10^{12} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$; 37 °C 时为 $7.20 \times 10^{12} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 远大于最大动态扩散猝灭常数 $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 进一步表明胡椒碱对 BSA 荧光猝灭不是动态猝灭, 而是胡椒碱与 BSA 之间形成了不发光的复合物, 以静态方式猝灭 BSA 的荧光。以 $\ln(I_f/I_0)$ 对 q_0 作 Perrin 曲线, 曲线呈现良好的线性关系 (见表 1), 静态猝灭常数随温度的升高而减少, 再次确定为静态猝灭。

2.2 胡椒碱与 BSA 的表观结合常数 K_A 及结合位点数 n

药物分子对蛋白质的荧光猝灭为静态猝灭时, 药物分子与蛋白质形成了复合物。假设胡椒碱在蛋白质分子上有 n 个相同且独立的结合位点, 可获得求算表观结合常数 K_A 和结合位点数 n 的公式: $\lg[(I_f - I_0)/I_0] = \lg K_A + n \lg q_0$ [12], 式中 q_0 为胡椒碱的浓度。按照该式对实验数据进行处理得到线性拟合方程分别为 $\lg[(I_f - I_0)/I_0] = 7.009 + 1.45 \lg q_0$, $r = 0.9968$ (25 °C); $\lg[(I_f - I_0)/I_0] = 7.045 + 1.46 \lg q_0$, $r = 0.9971$ (37 °C)。方程的截距等于 $\lg K_A$, 斜率等于 n , 从而可以得到 K_A 分别为 $1.02 \times 10^7 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ (25 °C) 和 $1.11 \times 10^7 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ (37 °C), n 分别为 1.45 (25 °C) 和 1.46 (37 °C), 表明胡椒碱与 BSA 之间具有较强的结合作用, 温度对结合常数的影响很小, 胡椒碱能够被 BSA 贮藏和运输。

2.3 胡椒碱与 BSA 之间相互作用的热力学参数及作用力类型

猝灭体和生物大分子的相互作用主要有氢键、范德华力、静电引力和疏水力 [13], 当温度相差不大时可以把反应焓变视为一个常数, 由不同温度下的结合常数 K_A , 根据式 $\ln(K_2/K_1) = (H/R)(1/T_1 - 1/T_2)$ 、 $G = -RT \ln K_A$ 、 $G = H - TS$ 可计算出胡椒碱与 BSA 作用过程的焓变、吉布斯自由能和熵变, 结果列于表 2。

胡椒碱与 BSA 结合过程的 $G < 0$, $S > 0$, 表明其是一个熵增加、吉布斯自由能降低的自发过程。胡椒碱与 BSA 结合过程中 $H > 0$, $S > 0$, 根据热力学函数与作用力间的关系 [13] 可以推断, 胡椒碱与 BSA 之间主要以疏水作用力为主。

2.4 胡椒碱与 BSA 之间结合位置的计算

能量转移效率 E 与荧光体和猝灭体的距离 r 及临界能量转移距离 R_0 之间有如下关系: $E = R_0^6 / (R_0^6 + r^6) = 1 - I_f/I_0$, $R_0^6 = 8.8 \times 10^{-25} K^2 N^{-4} \text{ J}$, 式中 K^2 为偶极空间取向因子, 可取荧光体和猝灭体各向随机分布平均值的 $2/3$ [14]; Φ_f 为供能体荧光量子产率, 通常取蛋白质中色氨酸的量子产率 0.118 [14]; N 为介质折射指数, 一般取水和有机物折射指数的平均值 1.336 [14]; J 为荧光体的荧光发射光谱与猝灭体的吸收光谱的重叠积分, $J = \int F(\lambda) \epsilon(\lambda) d\lambda / \int F(\lambda) d\lambda = [\int F(\lambda) \epsilon(\lambda) d\lambda] / [\int F(\lambda) d\lambda]$, 式中 $F(\lambda)$ 为荧光体在波长为 λ 的荧光强度; $\epsilon(\lambda)$ 为猝灭体在波长为 λ 时的摩尔吸光系数。

采用矩形分割法求出光谱重叠区域的积分值 J 为 $3.26 \times 10^{-14} \text{ cm}^3 \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ (25 °C)、 $3.28 \times 10^{-14} \text{ cm}^3 \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ (37 °C), 求得胡椒碱与 BSA 结合位置距色氨酸的距离 r 为 3.28 nm (25 °C) 和 3.30 nm (37 °C), 均小于 7 nm, 且 BSA 的发射光谱与胡椒碱的吸收光谱有一定的重叠, 根据 Förster 的偶极 - 偶极无辐射能量转移理论 [15], 推断胡椒碱和 BSA 分子之间发生了非辐射能量转移作用。

2.5 胡椒碱对 BSA 构象的影响

对于蛋白质的同步荧光光谱, $\lambda_{exc} = 20 \text{ nm}$ 时仅表现出酪氨酸残基的荧光, $\lambda_{exc} = 60 \text{ nm}$ 时仅表现出色氨酸残基的荧光。由于氨基酸残基的最大荧光波长与其所处环境的疏水性有关, 所以由荧光波长的改变可判断蛋白质构象的变化。固定 BSA 的浓度而逐渐增大胡椒碱的浓度, 记录 $\lambda_{exc} = 20 \text{ nm}$ 和 $\lambda_{exc} =$

表 1 由曲线拟合得到的 K_{SV} 和 K_p

Table 1 Dynamic quenching constant (K_{SV}) and static quenching constant (K_p) obtained by curve fitting

$t/$	$K_{SV} / (\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	r	$K_p / (\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	r
25	7.31×10^4	0.996 5	4.85×10^4	0.999 1
37	7.20×10^4	0.994 2	4.82×10^4	0.999 0

表 2 Piperine - BSA 结合作用的热力学函数

Table 2 Thermodynamic parameters of piperine - BSA binding procedure

$t/$	$G/$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	$H/$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	$S/$ ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)
25	-39.98	5.38	152.21
37	-41.81	5.38	152.22

60 nm 时的同步荧光光谱。实验发现色氨酸和酪氨酸残基的荧光均被猝灭,使其荧光强度降低,但色氨酸残基的荧光降低比酪氨酸的更显著,说明胡椒碱与 BSA 的结合位置更接近于色氨酸残基。色氨酸残基和酪氨酸残基的最大发射波长的位置均没有变化,胡椒碱与 BSA 发生了作用,但没有进入 BSA 的疏水腔内,所以 BSA 的构象未发生变化,BSA 疏水性微环境未改变^[16]。

2.6 Cu^{2+} 和 Fe^{3+} 参与时胡椒碱与 BSA 的相互作用

将一定量的 BSA 与胡椒碱溶液依次加入到 10 mL 比色管中,以分别含有浓度为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 和 Fe^{3+} 的 pH=7.4 的 Tris-HCl 缓冲溶液稀释至刻度,混匀,其它实验条件同上。 Cu^{2+} 和 Fe^{3+} 参与时胡椒碱对 BSA 荧光猝灭结果见图 2。实验数据按照 Stern-Volmer 方程、Perrin 方程拟合处理,有关参数见表 3。

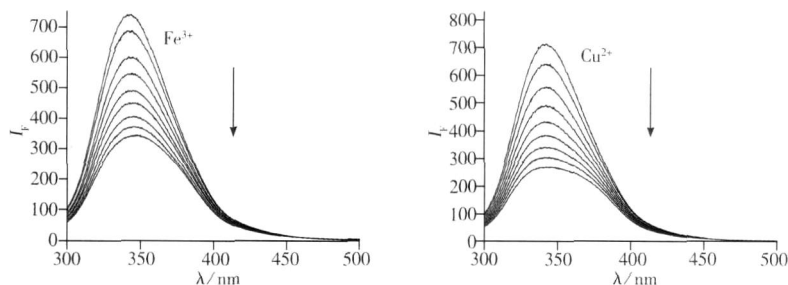


图 2 金属离子对胡椒碱 - BSA 荧光光谱的影响

Fig. 2 Effects of Fe^{3+} and Cu^{2+} on the fluorescence spectra of piperine - BSA at 25 $^{\circ}\text{C}$: $c(\text{BSA}): 1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $c(\text{metal ion}): 1 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; $c(\text{piperine}) \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ from up to down: 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4 and 1.6

表 3 金属离子对胡椒碱 - BSA 影响的实验数据

Table 3 Experimental data of the effects of Fe^{3+} and Cu^{2+} on the binding of piperine with BSA

Metal ion	$t/$	$K_{SV} /$ ($10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$)	$K_p /$ ($10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$)	r/nm	$K_A /$ ($10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$)	n	$H /$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	$G /$ ($\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$)	$S /$ ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$)
Fe^{3+}	25	7.65 ($r=0.999\ 0$)	4.90 ($r=0.997\ 9$)	3.18	1.51 ($r=0.997\ 7$)	1.27	-21.19	-35.26	47.21
	37	7.52 ($r=0.997\ 9$)	4.85 ($r=0.998\ 9$)	3.18	1.09 ($r=0.999\ 6$)	1.25	-21.19	-35.82	47.19
Cu^{2+}	25	11.19 ($r=0.995\ 0$)	5.99 ($r=0.999\ 4$)	3.03	1.56 ($r=0.999\ 5$)	1.25	-20.03	-35.34	51.38
	37	10.52 ($r=0.996\ 8$)	5.74 ($r=0.998\ 8$)	3.05	1.14 ($r=0.999\ 7$)	1.23	-20.03	-34.56	48.76

从图 2 可见, Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 参与时,胡椒碱对 BSA 的荧光同样具有猝灭作用,与无金属离子参与相比发射波长的位置未变。由表 3 可知: Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 存在时静态猝灭和非辐射能量转移仍是导致胡椒碱对 BSA 荧光猝灭的两大原因; Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 使胡椒碱与 BSA 的猝灭常数 K_{SV} 和 K_p 均增加,并且猝灭强度的大小为 $K_{SV}(\text{Cu}^{2+}) > K_{SV}(\text{Fe}^{3+})$,与文献 [17] 一致。但胡椒碱 - BSA 的结合常数降低,是因为金属离子也有一定的竞争结合 BSA 的能力^[18],所以减少了胡椒碱与 BSA 的结合力; Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 使胡椒碱在 BSA 分子上的结合位点数 n 和结合距离 r 均减少,因为金属离子与 BSA 结合后形成具有规则的几何构型的配合物而导致 BSA 分子柔性转变受到限制,BSA 的某些结构区域更为敞开^[19],因此胡椒碱与 BSA 内荧光性色氨酸残基的空间距离稍有减少。

从热力学函数值得知, Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 参与时胡椒碱与 BSA 的作用过程仍是一个熵增加、吉布斯自由能降低的自发过程;但 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 使胡椒碱与 BSA 之间的作用力类型变为以静电作用为主,金属离子可能通过“离子架桥”^[20]作用直接参与胡椒碱与 BSA 之间的结合而导致作用力类型从疏水作用变成以静电引力为主。

3 结 论

实验发现胡椒碱对 BSA 的荧光具有较强的猝灭作用,主要由静态猝灭和非辐射能量转移作用引起。胡椒碱与 BSA 之间通过疏水作用力形成复合物,可以被蛋白质储存和运输,并通过血液循环到达作用部位。

Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 的存在不影响胡椒碱对 BSA 的荧光猝灭作用及类型,但影响胡椒碱与 BSA 之间的作用

力, 作用力类型从疏水作用力变为静电引力。 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 的存在降低了胡椒碱与 BSA 的结合常数、结合位点数和结合距离, 缩短了药物在血液中的滞留时间, 增加了药物的最大作用强度。这将有助于短时间内提高药效。该研究对于阐明胡椒碱在血液中的存在状态、游离浓度及其体内代谢过程具有一定的意义。

参考文献:

- [1] 易平贵, 商志才, 愈庆森, 等. 丝裂霉素 C 与牛血清白蛋白结合作用的研究 [J]. 化学学报, 2002, 58 (12): 1649 - 1653.
- [2] 马林, 古练权. 化学生物学导论 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 34
- [3] 王彦卿, 张红梅, 张跟成. 荧光光谱法研究黄藤素与牛血清白蛋白的相互作用 [J]. 分析测试学报, 2006, 25 (5): 48 - 51.
- [4] 刘雪峰, 夏咏梅, 方云, 等. 中药黄连有效成分盐酸小檗碱与牛血清白蛋白的相互作用 [J]. 高等学校化学学报, 2004, 25 (11): 2099 - 2103
- [5] 张立伟, 杨频, 王芳. 丹参酮等中草药有效成分与白蛋白结合反应的光谱研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2001, 21 (5): 694 - 696
- [6] 韦琨, 龚德强, 裴玉萍, 等. 胡椒的化学成分、药理作用及与卡瓦胡椒的对比 [J]. 中国中药杂志, 2002, 27 (5): 328 - 333.
- [7] 许金钩, 王尊本. 荧光分析法 [M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2006: 65 - 68
- [8] 杨曼曼, 杨频, 张立伟. 荧光法研究咖啡酸类药物与白蛋白的作用 [J]. 科学通报, 1994, 39 (1): 31 - 35.
- [9] TAN Jiaoniao, LU Jiaqin, TAN Xuan, et al Study of the interaction of kaempferol with serum albumin [J]. J Mol Struct, 2004, 691: 197 - 202
- [10] 江云宝, 许金钩, 陈国珍. 一类新的表面活性剂——长链烷基三苯基磷. 稳态荧光猝灭法测定十二链烷基三苯基溴化磷胶束的平均簇集数 [J]. 分析化学, 1992, 20 (10): 1109 - 1112.
- [11] 刘雪峰, 夏咏梅, 方云, 等. 三种香豆素类中药小分子与牛血清白蛋白的相互作用 [J]. 化学学报, 2004, 62 (16): 1484 - 1490
- [12] 苏忠, 秦川, 谢孟峡, 等. 罗布麻活性成分与人血清白蛋白结合的光谱学研究 [J]. 化学学报, 2007, 65 (4): 329 - 336
- [13] ROSS PD, SUBRAMANIAN S The thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability [J]. Biochemistry, 1981, 20: 3096 - 3102
- [14] 杨曼曼, 杨频, 席小莉. 荧光染料探针与蛋白质结合的研究 [J]. 科学通报, 1997, 42 (12): 1276 - 1279.
- [15] FÖRSTER T Intermolecular energy transference and fluorescence [J]. Ann Phys, 1948, 21: 55
- [16] 梁彦秋, 邓斌, 刘婷婷, 等. 杂多酸盐 $\text{K}_2[\text{PTe}_2\text{W}_{10}\text{O}_{40}] \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 与牛血清白蛋白相互作用的研究 [J]. 无机化学学报, 2007, 23 (4): 688 - 692
- [17] 梁宏, 邢本刚, 吴庆轩, 等. $\text{Cu}(\text{II})$ 、 $\text{Fe}(\text{III})$ 与人血清白蛋白相互作用的荧光光谱研究 [J]. 化学学报, 1999, 57: 161 - 165.
- [18] 卢继新, 张贵珠, 赵鹏, 等. 阿霉素与血清白蛋白的作用及共存离子对反应影响的研究 [J]. 化学学报, 1997, 55: 915 - 920.
- [19] LIANG Hong, OUYANG Di, HU Xuying, et al Structural studies on metal - serum albumin. Slow conformational transition of HSA and BSA induced by Ni^{2+} ion [J]. Acta Chim Sinica, 1998, 56: 662 - 667.
- [20] XIA Jiulin, DUB N P L, KM Y. Complex format in between poly(oxyethylene) and sodium dodecylsulfate micelles: light scattering, electrophoresis, and dialysis equilibrium studies [J]. J Phys Chem, 1992, 96: 6805 - 6811.