

文章编号: 1000-7032(2012)11-1268-07

# 胡椒酸乙酯与牛血清白蛋白的相互作用及金属离子的影响

领 小\*, 乌云索德, 包力尔

(内蒙古大学 化学化工学院, 内蒙古 呼和浩特 010021)

**摘要:** 采用荧光光谱研究了胡椒酸乙酯与牛血清白蛋白(BSA)的相互作用。实验结果表明:胡椒酸乙酯与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。胡椒酸乙酯对BSA的猝灭速率常数 $K_q$ 为 $1.451 \times 10^{13} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (25 °C)和 $1.136 \times 10^{13} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (37 °C),胡椒酸乙酯与BSA的结合常数 $K_A$ 为 $9.484 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$  (25 °C)和 $1.355 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$  (37 °C),结合位点数 $n$ 为1.18(25 °C)和1.24(37 °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2.68 nm(25 °C)和2.81 nm(37 °C)。通过热力学参数的计算,确定胡椒酸乙酯与牛血清白蛋白的相互作用是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。讨论了共存金属离子对胡椒酸乙酯与BSA的相互作用的影响。

**关键词:** 荧光光谱法; 胡椒酸乙酯; 牛血清白蛋白; 金属离子; 影响

中图分类号: O482.31; O657.3

文献标识码: A

DOI: 10.3788/fjxb20123311.1268

## The Effect of Metal Ions on Interaction Between Ethyl Piperate and Bovine Serum Albumin

LING Xiao\*, WUYUN Suo-de, BAO Li-er

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

\* Corresponding Author, E-mail: lingxiaobao@126.com

**Abstract:** The interaction between ethyl piperate and bovine serum albumin (BSA) was deeply investigated by using fluorescence spectroscopy (FS). The experimental results showed that the ethyl piperate molecules quenched the intrinsic fluorescence of BSA by forming ethyl piperate-BSA complex. The mechanism of fluorescence quenching was confirmed combining by both static quenching and non-radiation energy transferring. The quenching constants ( $K_q$ ) are  $1.451 \times 10^{13} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (25 °C) and  $1.136 \times 10^{13} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$  (37 °C). The apparent binding constants ( $K_A$ ) between ethyl piperate and BSA are  $9.484 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$  (25 °C) and  $1.355 \times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$  (37 °C), and the value of binding sites ( $n$ ) are 1.18 (25 °C) and 1.24 (37 °C). According to the Förster theory of non-radiation energy transfer, the binding distances ( $r$ ) were 2.68 nm (25 °C) and 2.81 nm (37 °C). The process of binding was a spontaneous molecular interaction in which entropy increased and Gibbs free energy decreased, indicating that the interaction of ethyl piperate and BSA was driven mainly by hydrophobic force. The effects of metal ions on the interaction of ethyl piperate with BSA were also discussed.

**Key words:** fluorescence spectroscopy; ethyl piperate; bovine serum albumin; metal ions; effect

收稿日期: 2012-06-21; 修订日期: 2012-07-20

基金项目: 国家科技重大专项课题(2009ZX09103-103); 内蒙古大学高层次人才科研启动基金资助项目

作者简介: 领小(1971-), 女, 内蒙古通辽人, 主要从事药用植物化学的研究。

E-mail: lingxiaobao@126.com

## 1 引言

血清白蛋白是血浆中最丰富的载体蛋白质,它能与许多内源及外源性物质(如药物等)结合而在血浆中储存、运输物质<sup>[1]</sup>。近年来,通过光谱法分析血清白蛋白与药物之间相互作用的研究非常活跃<sup>[2-4]</sup>,这将有助于了解药物在体内的存在状态、运输、吸收、代谢及作用机制等。对于复杂的生命体而言,物质之间的相互作用远不仅限于药物与血清白蛋白两者之间的相互作用,生物体内所含的金属离子必然会影响到药物分子与蛋白质的相互作用,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药物的体内输送和作用机制。

胡椒酸乙酯(Ethyl piperate)是由胡椒碱合成出来的具有显著降血脂活性的化合物<sup>[5-7]</sup>。作为降血脂备选药,胡椒酸乙酯在未来降血脂医药领域有很大的应用潜力。目前,有关胡椒酸乙酯与生物大分子相互作用的研究还未见报道。本文模拟生理条件运用荧光光谱(FS)和紫外光谱(UV)研究了胡椒酸乙酯与牛血清白蛋白(Bovine serum albumin, BSA)之间的相互作用,并对其结合机制进行了探讨。获得了胡椒酸乙酯对BSA荧光猝灭的主要原因,求出了结合常数、结合位点数及药物与BSA之间的主要作用力类型等作用参数。以生物体内4种必需的金属离子 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 和 $\text{Mg}^{2+}$ 为考察对象,研究了它们对胡椒酸乙酯与BSA相互作用的影响。这些结论对胡椒酸乙酯的体内转运和药理作用的深入研究具有一定的参考价值。

## 2 实验

### 2.1 仪器和试剂

RF-5301PC 荧光光度计(日本岛津公司);紫外分光光度计(日本岛津公司);电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);pHS-3C型酸度计(上海第一分析仪器厂);电子恒温水浴锅(浙江巩义市英峪予华仪器厂)。

胡椒酸乙酯(自制,98.9%)的浓度为 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的95%乙醇溶液;牛血清白蛋白(BSA,99.0%,华美生物工程公司提供)的 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液;浓度为 $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{pH} = 7.4$ 的Tris-HCl缓

冲溶液(含有 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的NaCl);一定浓度的金属离子溶液;所用其它试剂均为分析纯;实验用水为二次蒸馏水。

### 2.2 光谱测定

将一定量的BSA与胡椒酸乙酯溶液依次加入到10 mL的比色管中,以 $\text{pH} = 7.4$ 的Tris-HCl缓冲溶液(含有 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的NaCl)或以 $\text{pH} = 7.4$ 含 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 金属离子的Tris-HCl缓冲溶液稀释至刻度,混匀,于恒温水浴中分别在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温30 min。移取该溶液于荧光池中,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,测定荧光发射光谱。以Tris-HCl缓冲液为溶剂配制 $1 \times 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的胡椒酸乙酯溶液,恒温测定其在300~500 nm的UV吸收光谱。按上述实验方法,测定溶液中另加金属离子时的光谱。

## 3 结果与讨论

### 3.1 胡椒酸乙酯对BSA内源性荧光的猝灭

BSA分子中能发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BSA分子中的色氨酸残基发射的荧光,其最大发射波长约为343 nm。配置一系列含有不同浓度的胡椒酸乙酯而BSA总浓度始终为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的待测溶液,分别在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 和 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温30 min,扫描300~500 nm范围的发射光谱,结果见图1。由图1可见,BSA在343 nm左右有较强的荧光,而且随着溶液中胡椒酸乙酯浓度的增大,该荧光峰的强度呈现有规律的降低,表明胡椒酸乙酯能够与BSA发生相互作用而猝灭BSA的荧光。

荧光猝灭过程通常分为动态猝灭和静态猝灭两类。动态猝灭是猝灭剂和荧光体的激发态分子之间的相互作用过程,这一过程用Stern-Volmer方程来描述:

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

式中 $F_0$ 是无猝灭剂时的BSA的荧光强度, $F$ 为有猝灭剂时的BSA的荧光强度。 $[Q]$ 为猝灭剂胡椒酸乙酯的浓度。 $K_q$ 为动态猝灭速率常数,单位为 $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ,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 $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ <sup>[8]</sup>。 $\tau_0$ 为没有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 $10^{-8} \text{ s}$ <sup>[9]</sup>。

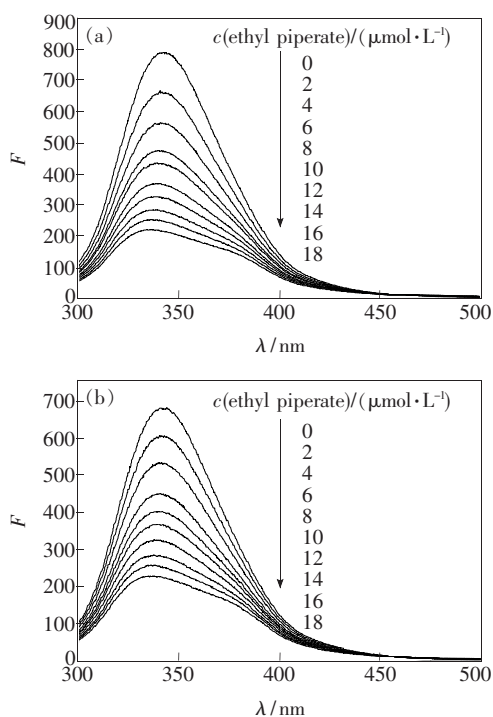


图 1 胡椒酸乙酯对 BSA 荧光光谱的影响。(a) 25 °C; (b) 37 °C。c(BSA) = 10 μmol · L<sup>-1</sup>。

Fig. 1 Effects of ethyl piperate on fluorescence spectra of BSA at 25 °C (a) and 37 °C (b). c(BSA) = 10 μmol · L<sup>-1</sup>.

$K_{SV}$  为 Stern-volmer 动态猝灭常数, 随着温度的升高而增大。

静态猝灭是指猝灭剂和荧光体在基态时发生作用, 生成不发光的复合物从而导致荧光体荧光强度降低的过程, 静态猝灭中温度的升高将降低复合物的稳定性使猝灭常数减小。这一过程遵守 Perrin 方程<sup>[10-11]</sup>

$$\ln(F_0/F) = K_p [Q], \quad (2)$$

式中  $K_p$  为静态猝灭常数。

假设胡椒酸乙酯对 BSA 的荧光猝灭为动态猝灭过程, 以  $F_0/F$  对相应的  $[Q]$  作 Stern-Volmer 曲线拟合, 见图 2。结果显示 Stern-Volmer 曲线呈现良好的线性关系(表 1), 且  $K_{SV}$  随着温度升高而减小。这表明动态猝灭不是引起 BSA 荧光猝灭的主要原因, 而是胡椒酸乙酯与 BSA 形成复合物所引起的静态猝灭。猝灭速率常数  $K_q$  在 25 °C 时为  $1.451 \times 10^{13} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , 37 °C 时为  $1.136 \times 10^{13} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , 远大于最大动态扩散猝灭常数  $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。这进一步表明胡椒酸乙酯对 BSA 的荧光猝灭是静

态猝灭, 故可以确定胡椒酸乙酯与 BSA 之间形成了基态复合物。

以  $\ln(F_0/F)$  对  $[Q]$  拟合 Perrin 方程, 结果见图 2 和表 1。拟合曲线呈现良好的线性关系, 静态猝灭常数随温度的升高而减小, 再次确定胡椒酸乙酯对 BSA 的荧光猝灭为静态猝灭。

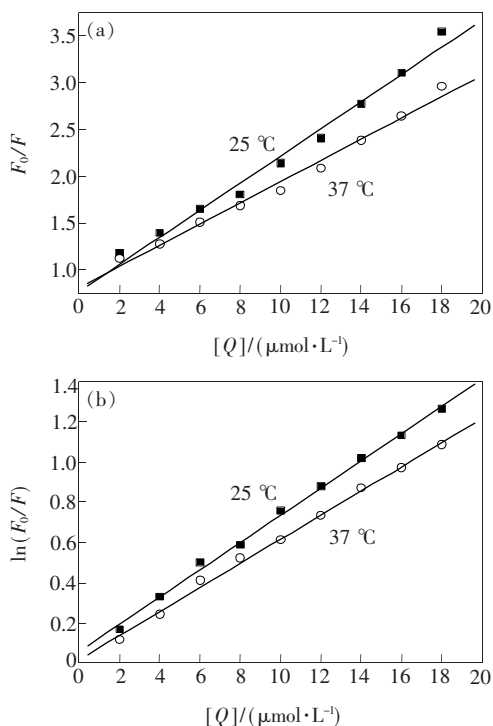


图 2 胡椒酸乙酯-BSA 的 Stern-volmer 曲线(a) 和 Perrin 曲线(b)

Fig. 2 Stern-volmer curves (a) and Perrin curves (b) of ethyl piperate-BSA

表 1 由图 2 曲线拟合得到的  $K_{SV}$  和  $K_p$

Table 1  $K_{SV}$  and  $K_p$  obtained by fitting the curves in Fig. 2

$T/^\circ\text{C}$	$K_{SV}(R)/$ ( $10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ )	$K_p(R)/$ ( $10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ )
25	1.451(0.992 4)	6.760(0.998 5)
37	1.136(0.993 9)	6.002(0.998 5)

### 3.2 胡椒酸乙酯与 BSA 的表观结合常数 $K_A$ 以及结合位点数 $n$

在药物分子对蛋白质的荧光猝灭为静态猝灭的情况下, 药物分子与蛋白质形成了复合物。假设胡椒酸乙酯在蛋白质分子上有  $n$  个相同且独立的结合位点, 按照下面的公式(3)可以求解结合常数  $K_A$  和  $n$ :

$$\lg \frac{(F_0 - F)}{F} = \lg K_A + n \lg [Q], \quad (3)$$

其中  $K_A$  为结合常数。以  $\lg [(F_0 - F)/F]$  对  $\lg [Q]$  作图, 得一直线, 通过直线的截距和斜率求出胡椒酸乙酯与蛋白分子的结合常数  $K_A$  和结合位点数  $n$ 。结果见图 3 和表 2。结果显示胡椒酸乙酯与 BSA 的结合常数较大, 有较强的结合作用, 温度对结合位点数影响很小, 表明胡椒酸乙酯能够被蛋白质所储存和运输。

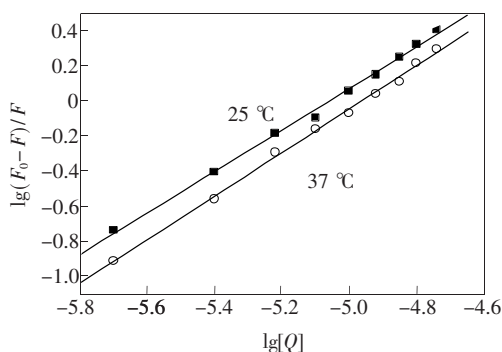


图 3 胡椒酸乙酯-BSA 的  $\lg [(F_0 - F)/F] - \lg [Q]$  曲线  
Fig. 3  $\lg [(F_0 - F)/F] - \lg [Q]$  curves of ethyl piperate-BSA

表 2 胡椒酸乙酯-BSA 的结合常数  $K_A$ 、结合位点数  $n$  以及热力学函数值

Table 2 The apparent association constant ( $K_A$ ), value of binding site ( $n$ ) and thermodynamic parameters in ethyl piperate-BSA

$T/^\circ\text{C}$	$K_A(R)/(10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$n$	$\Delta G/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta H/(\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta S/(\text{J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1})$
25	9.484 (0.998 1)	1.18	-34.98	22.85	194.06
37	13.55 (0.998 7)	1.24	-35.47	22.85	188.13

### 3.3 胡椒酸乙酯与 BSA 之间相互作用的热力学参数以及作用力类型

通常情况下, 药物小分子和蛋白质等生物大分子发生相互作用为弱相互作用, 主要作用力为疏水力、静电引力、氢键和范德华力。当温度相差不大时, 可以把反应焓变看成一个常数, 由不同温度下的结合常数  $K_A$ , 根据下列公式可计算出反应的焓变、吉布斯自由能和熵变:

$$\ln \frac{K_2}{K_1} = \frac{\Delta H}{R} \left( \frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right), \quad (4)$$

$$\Delta G = -RT \ln K_A, \quad (5)$$

$$\Delta S = \frac{\Delta H - \Delta G}{T}. \quad (6)$$

通过计算得到的胡椒酸乙酯与 BSA 的热力学函数值列于表 2。胡椒酸乙酯与 BSA 的相互作用焓变  $\Delta H > 0$ , 熵变  $\Delta S > 0$ , 根据热力学函数与作用力类型的关系推断<sup>[12]</sup>, 胡椒酸乙酯与 BSA 的主要作用力为疏水作用力。

### 3.4 胡椒酸乙酯与 BSA 之间结合位置的计算

根据 Förster 的偶极-偶极无辐射能量转移理论<sup>[13]</sup>, 当供能体的荧光发射光谱与受能体的吸收光谱有足够的重叠且供能体与受能体的最大距离不超过 7 nm 时, 将发生非辐射能量转移, 导致荧光猝灭。计算公式如下:

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} = 1 - \frac{F}{F_0}, \quad (7)$$

$$R_0^6 = 8.8 \times 10^{-25} K^2 N^{-4} \Phi J, \quad (8)$$

$$J = \frac{\int F(\lambda) \varepsilon(\lambda) \lambda^4 d\lambda}{\int F(\lambda) d\lambda} = \frac{\sum F(\lambda) \varepsilon(\lambda) \lambda^4 \Delta\lambda}{\sum F(\lambda) \Delta\lambda}. \quad (9)$$

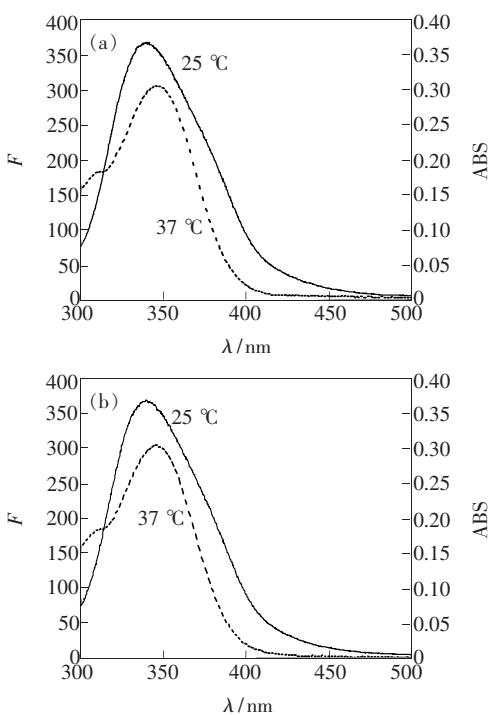


图 4 BSA 的荧光发射光谱(a)和胡椒酸乙酯的紫外吸收光谱(b)。

Fig. 4 The fluorescence spectra of BSA (a) and the absorption spectra of ethyl piperate (b)

BSA 与胡椒酸乙酯的量的比为 1:1 时, BSA 的发射光谱与胡椒酸乙酯的吸收光谱有一定的重

叠(图4)。分子间的结合距离  $r$  与能量转移效率  $E$  及临界能量转移距离  $R_0$  有关,根据它们之间的关系方程计算出作用距离  $r$  为 2.68 nm(25 °C) 和 2.81 nm(37 °C),表明胡椒酸乙酯和 BSA 之间发生了非辐射能量转移。

### 3.5 金属离子对胡椒酸乙酯与 BSA 的相互作用的影响

为了进一步了解金属离子对胡椒酸乙酯与 BSA 相互作用的影响,将一定量的 BSA 与胡椒酸乙酯溶液依次加入到 10 mL 的比色管中,以分别含有浓度为  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的金属离子  $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Fe}^{3+}$  pH = 7.4 的 Tris-HCl 缓冲溶液(含  $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl)稀释至刻度,混匀,其它实验条件同上。有金属离子参与时的胡椒酸乙酯对 BSA 的荧光猝灭结果见图 5,实验数据按照 Stern-Volmer 方程、Perrin 方程拟合处理的结果,表观结合常数  $K_A$ 、结合位点数  $n$ 、根据 BSA 的发射光谱与胡椒酸乙酯的吸收光谱的重叠图由 Förster 偶极-偶极无辐射能量转移理论计算得到的  $r$  以及有关作用过程的热力学参数一并列于表 3。

从图 5 可见, $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  等金属离子参与时,胡椒酸乙酯对 BSA 的荧光同样具有

猝灭作用,与无金属离子参与相比较发射波长的位置未变。从表 3 中的计算结果得知:金属离子存在时,静态猝灭和非辐射能量转移仍是导致胡椒酸乙酯对 BSA 荧光猝灭的两大原因;金属离子  $\text{Fe}^{3+}$  使胡椒酸乙酯与 BSA 的猝灭常数  $K_{SV}$  和  $K_p$  均增加, $\text{Cu}^{2+}$  使胡椒酸乙酯与 BSA 的猝灭常数  $K_{SV}$  和  $K_p$  的变化不大, $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  离子使胡椒酸乙酯与 BSA 的猝灭常数  $K_{SV}$  和  $K_p$  均减小。除  $\text{Fe}^{3+}$  离子使胡椒酸乙酯-BSA 的结合常数降低以外, $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  离子参与使胡椒酸乙酯-BSA 的结合常数升高。金属离子使胡椒酸乙酯在 BSA 分子上的结合距离  $r$  均增加, $\text{Fe}^{3+}$  使结合位点数  $n$  减少,而  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  离子参与使胡椒酸乙酯-BSA 的结合位点数  $n$  增加。

从热力学函数值得知,金属离子参与时胡椒酸乙酯与 BSA 的作用过程仍然是一个熵增加、吉布斯自由能降低的自发过程。但  $\text{Mg}^{2+}$  离子使胡椒酸乙酯与 BSA 之间的作用力类型发生了明显改变,以静电相互作用为主。因为胡椒酸乙酯结构中含有酯类,酯类是“硬碱”<sup>[9]</sup>,所以很容易与“硬酸” $\text{Mg}^{2+}$  配位<sup>[14]</sup>, $\text{Mg}^{2+}$  离子可能通过“离子架桥”<sup>[15]</sup>作用直接参与了胡椒酸乙酯与 BSA 之间

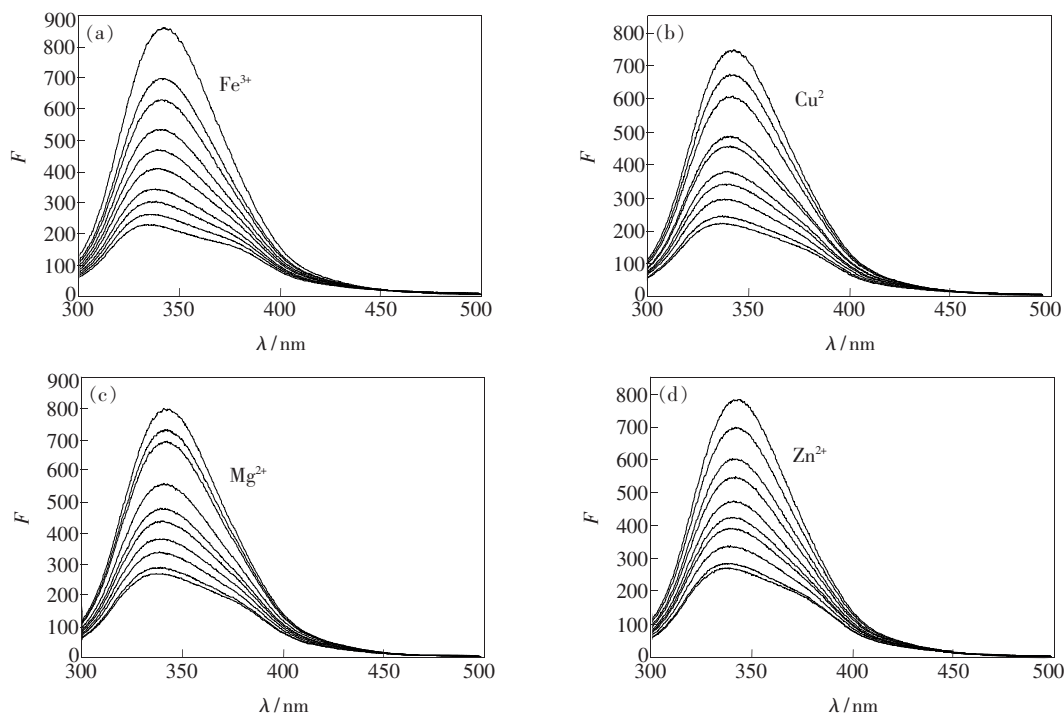


图 5 金属离子对胡椒酸乙酯-BSA 荧光光谱的影响。温度为 25 °C,  $c(\text{BSA}) = 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $c(\text{metal ion}) = 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。从上至下,  $c(\text{ethyl piperate}) = 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

Fig. 5 Effects of coexistent ions on fluorescence spectra of BSA with ethyl piperate at 25 °C.  $c(\text{BSA}) = 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .  $c(\text{metal ion}) = 10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .  $c(\text{ethyl piperate}) = 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , from up to down.

表 3 金属离子对胡椒酸乙酯-BSA 影响的实验数据

Table 3 Experimental results of ethyl piperate-BSA binding process with coexistent ions

Metal ion	T/°C	$K_{SV}(R)/(10^5 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$K_p(R)/(10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1})$	r/nm	$K_A(R)/(10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1})$	n	$\Delta H/(kJ \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta G/(kJ \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta S/(J \cdot K^{-1} \cdot \text{mol}^{-1})$
Fe <sup>3+</sup>	25	1.577(0.987 0)	7.089(0.999 4)	2.71	0.679(0.989 6)	1.15	8.70	-33.27	140.84
	37	1.316(0.989 2)	6.404(0.999 8)	2.82	0.778(0.996 1)	1.18	8.70	-34.96	140.84
Cu <sup>2+</sup>	25	1.421(0.985 8)	7.050(0.997 4)	2.78	1.327(0.997 5)	1.41	137.096	-34.93	577.27
	37	1.142(0.988 2)	6.003(0.998 1)	2.86	11.298(0.996 2)	1.23	137.096	-41.86	577.28
Mg <sup>2+</sup>	25	1.204 (0.992 7)	6.493(0.995 4)	2.82	18.20(0.990 1)	1.47	-29.19	-41.42	41.04
	37	1.108(0.995 0)	6.168(0.993 7)	2.82	11.53(0.980 9)	1.43	-29.19	-41.91	41.03
Zn <sup>2+</sup>	25	1.123(0.987 6)	5.978(0.997 4)	2.83	1.288(0.996 7)	1.23	73.73	-34.86	364.40
	37	0.971(0.992 5)	5.575(0.999 0)	2.84	4.074(0.999 2)	1.35	73.73	-39.23	364.39

的结合,导致胡椒酸乙酯与 BSA 的作用力类型从疏水作用变成静电引力为主。其它 3 种离子 Zn<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup> 和 Fe<sup>3+</sup> 是“中间酸”,所以与“硬碱”的作用能力没有“硬酸”强,Zn<sup>2+</sup>、Cu<sup>2+</sup> 和 Fe<sup>3+</sup> 离子参与时胡椒酸乙酯与 BSA 之间的作用力类型没发生变化,还是以疏水作用力为主。

#### 4 结 论

实验发现胡椒酸乙酯对 BSA 的荧光具有较强的猝灭作用,主要为静态猝灭和非辐射能量转移作

用引起。胡椒酸乙酯与 BSA 之间通过疏水作用力形成复合物,可以被蛋白质所储存和运输,通过血液循环到达作用部位。金属离子的存在不影响胡椒酸乙酯对 BSA 的荧光猝灭作用及类型。但 Mg<sup>2+</sup> 离子使胡椒酸乙酯与 BSA 之间的作用力类型发生明显改变,以静电相互作用为主。Cu<sup>2+</sup>、Fe<sup>3+</sup> 和 Zn<sup>2+</sup> 离子参与时胡椒酸乙酯与 BSA 之间的作用力类型没发生变化,还是以疏水作用为主。该研究对于阐明胡椒酸乙酯在血液中存在状态、游离浓度及其体内代谢过程的了解具有一定的意义。

#### 参 考 文 献:

- [1] Xu W, Wu X, Zhou H P, *et al.* Interaction between pymetrozine and bovine serum albumin [J]. *Chem. J. Chin. Univ.* (高等学校化学学报), 2009, 30(11):2175-2179 (in Chinese).
- [2] Su Z, Qin C, Xie M X, *et al.* Spectroscopic investigation of the binding of the active components of apocynum venetum L. to human serum albumin [J]. *Acta Chimica Sinica* (化学学报), 2007, 65(2):329-336 (in Chinese).
- [3] Feng X Q, Fu G Q, Li X F, *et al.* Interaction of rare earth with bovine serum albumin [J]. *Chin. J. Lumin.* (发光学报), 2011, 32(2):205-209 (in Chinese).
- [4] Liu B S, Wang J, Xue C L, *et al.* Fluorescence analysis of the interaction between cofotaxime sodium and chloramphenicol as well as bovine serum albumin [J]. *Chin. J. Lumin.* (发光学报), 2011, 32(6):628-635 (in Chinese).
- [5] Wu Yong, Borjihan Gereltu. Synthesis of piperinic esters and their antilipidic effect [J]. *Journal of Medicine & Pharmacy of Chinese Minorities* (中国民族医药), 2004, 10(2):23-24 (in Chinese).
- [6] Lu Youli, Bao Narisu, Borjihan Gereltu, *et al.* Contribution of carboxylesterase in hamster to the intestinal first-pass loss and low bioavailability of ethyl piperate an effective lipid-lowering drug candidate [J]. *Drug Metabolism and Disposition*, 2011, 39(5):796-802.
- [7] Borjihan Gereltu, Zhao Rigetu, Na Risu, *et al.* Application of piperinic ester species in preparing antilipidic medicine or health products: China, ZL200510125976.2 [P]. 2008-3-26.
- [8] Tian J N, Liu J Q, Tian X, *et al.* Study of the interaction of kaempferol with serum albumin [J]. *J. Mol. Struct.*, 2004, 691:197-202.
- [9] Xu J G, Wang Z B. *Fluorescence Analysis Method* [M]. Ed. 3, Beijing: Science Press, 2006, 65 (in Chinese).

- [10] Liu B S, Xue C L, Wang J, *et al.* Studies on the interaction between ciprofloxacin and ofloxacin in presence of bovine serum albumin by spectroscopic methods [J]. *Chin. J. Lumin.* (发光学报), 2010, 31(2):285-290 (in Chinese).
- [11] Liu X F, Xia Y M, Fang Y, *et al.* Interaction between natural pharmaceutical homologues of coumarin and bovine serum albumin [J]. *Acta Chimica Sinica* (化学学报), 2004, 62(16):1484-1490 (in Chinese).
- [12] Xin J W, Ma H Y, Yang M. Spectroscopic studies on the interaction between mecobalamin and bovine serum albumin [J]. *Chin. J. Lumin.* (发光学报), 2012, 33(5):553-557 (in Chinese).
- [13] Förster T. Intermolecular energy transference and fluorescence [J]. *Ann. Phys.*, 1948, 21:55-75.
- [14] Song S Q, Xue H. Application of soft hard acid base principles in supramolecular chemistry [J]. *Technology & Development of Chemical Industry* (化工技术与开发), 2006, 35(1):18-20 (in Chinese).
- [15] Xia J L, Dubin P L, Kim 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.