

文章编号: 1674-8085(2017)03-0100-07

# 阿昔洛韦与牛血清蛋白相互作用研究

胡 筱, \*余丽双

(福建中医药大学药学院, 福建, 福州 350122)

**摘要:** 目的 研究了阿昔洛韦(ACV)与牛血清白蛋白(BSA)之间的相互作用。方法 在 pH 为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液中, 发现阿昔洛韦在 348 nm ( $\lambda_{ex} = 282$  nm) 对牛血清白蛋白的荧光有猝灭作用。并对阿昔洛韦对牛血清白蛋白荧光猝灭的机理进行了初步探讨。**结果** 发现在弱酸性、中性及弱碱性条件下均表现为静态猝灭。利用荧光猝灭双倒数图计算了阿昔洛韦与牛血清白蛋白之间的表观结合常数为  $1.48 \times 10^4$ 、结合位点数为 1, 结合位置接近于色氨酸残基, 牛血清白蛋白中色氨酸残基与阿昔洛韦分子间的距离为 3.138 nm。**结论** 根据热力学参数计算确定了阿昔洛韦与牛血清白蛋白之间的主要作用力类型为疏水作用力, 同时, 采用同步荧光技术考察了阿昔洛韦对牛血清白蛋白构象的影响。

**关键词:** 阿昔洛韦; 牛血清白蛋白; 荧光猝灭; 同步荧光

中图分类号: O657.34

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2017.03.018

## STUDY ON INTERACTION BETWEEN ACYCLOVIR AND BOVINE SERUM ALBUMIN

HU Xiao, \*YU Li-shuang

(School of Pharmacy, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou, Fujian 350122, China)

**Abstract Objective:** The interaction between Bovine Serum Albumin (BSA) and acyclovir(ACV) was investigated in detail in this paper to indicate the way of combination of ACV and BSA. **Methods:** It was found that the fluorescence of BSA was quenched by ACV at 348 nm ( $\lambda_{ex}=282$  nm), and its relative mechanism was primarily discussed. **Results:** Under the weak-acid, neutral and weak basic conditions, the interaction showed fluorescent quenching, the binding constant were  $1.48 \times 10^4$  and the number of binding sites were 1 by the thermodynamics parameter. The results suggested that the interaction between ACV and BSA should be hydrophobic force in nature. **Conclusion:** It also proved that the fluorescence quenching reaction was happened between the interaction of the tryptophan residue of BSA and ACV. The distance between the tryptophan residue of BSA and ACV was 3.138 nm.

**Key words:** acyclovir; Bovine Serum Albumin; fluorescence quenching; synchronization fluorescence spectrum

阿昔洛韦 (Acyclovir) 是一种广谱高效的抗病毒药物, 主要用于治疗单纯疱疹病毒所致的各种感染, 是治疗单纯疱疹病毒性脑炎的首选药物。它可以减少发病率及降低死亡率, 均优于阿糖腺苷。还

可用于治疗带状疱疹、EB 病毒及免疫缺陷者并发水痘等感染<sup>[1]</sup>。

白蛋白是主要的血清蛋白, 可与许多内源及外源性化合物结合, 与药物的吸收、转运及代谢有着

收稿日期: 2017-01-06; 修改日期: 2017-03-22

基金项目: 福建省卫生系统中青年骨干人才培养项目 (2014-ZQN-JC-27)

作者简介: 胡 筱(1976-), 女, 重庆人, 讲师, 博士, 主要从事药物分析研究(E-mail:xiao\_hu61@163.com);

\*余丽双(1982-), 女, 福建人, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事中药质量控制研究(E-mail:sly2018@126.com).

密切的联系。药物与蛋白质的相互作用在临床医学及药代动力学上的重要应用,使得这一研究领域受到化学和医学界共同关注<sup>[2]</sup>。蛋白质由于含有苯丙氨酸、色氨酸、酪氨酸等几种芳香氨基酸而具有天然的荧光。

本研究用荧光法研究了阿昔洛韦(ACV)与牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin)之间的结合反应,计算了其结合常数和结合位点数,并计算了阿昔洛韦与牛血清白蛋白之间的作用力类型,采用同步荧光技术考察了阿昔洛韦对牛血清白蛋白构象的影响。为阿昔洛韦的药物作用机理研究提供了可资参考的实验数据与理论基础。

## 1 实验部份

### 1.1 仪器与试剂

Eclipse—荧光光谱仪(美国 VARIAN);pHS-3C 型精密酸度计(上海大普仪器有限公司);UV-1700 紫外分光光度计(日本岛津公司);KQ218 超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司);

牛血清白蛋白(BSA)(上海伯奥生物科技有限公司);阿昔洛韦(中国食品药品检定研究院(National institute s for food and drug control),编号:630-20000);

牛血清白蛋白溶液:准确称取 1 g 的牛血清白蛋白,在超声振荡条件下用二次水溶解并定容于 25 mL 的容量瓶中,得到浓度  $2.0 \times 10^{-5}$  mol/L 溶液,于 4℃ 冰箱保存备用;

Tris-HCl 缓冲液:由 0.1 mol/L Tris 溶液与 0.1 mol/L HCl 溶液按一定比例混合。

其余试剂均使用分析纯试剂,实验用水均为二次蒸馏水。

### 1.2 实验方法

于 10 mL 容量瓶中依次加入 2 mL 的 Tris-HCl 缓冲溶液,0.1 mL  $2.0 \times 10^{-5}$  mol/L 的牛血清白蛋白溶液,以及阿昔洛韦溶液适量,混匀,以二次水稀释、定容。各 pH 下的溶液分别配制两组,分别放置于 17℃ 和 37℃ 恒温水浴中恒温半小时,待测;固定激发波长为 282 nm,激发与发射狭缝宽度均取 3 nm,室温下,扫描 300~500 nm 区间的发射光谱,并记录 348 nm 处的荧光强度。药物与牛血清白

蛋白的同步荧光光谱测定条件与荧光光谱测定条件一致,固定荧光激发与发射的波长差分别为  $\Delta\lambda = 15$  nm 和  $\Delta\lambda = 60$  nm 时分别进行同步荧光光谱扫描,获取室温下的同步荧光光谱。

## 2 结果与讨论

### 2.1 ACV 与 BSA 相互作用

牛血清白蛋白的荧光激发与发射光谱如图 1 所示,最大激发波长  $\lambda_{ex} = 282$  nm,最大发射波长  $\lambda_{em} = 348$  nm。因此,在以下工作中均采用激发波长 282 nm 和发射波长 348 nm。

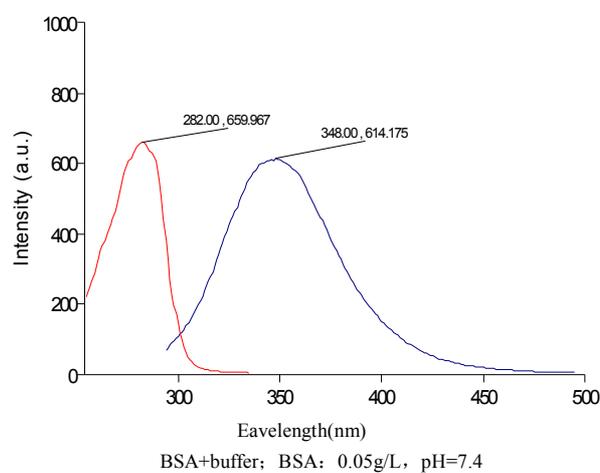


图 1 BSA 的荧光激发与发射光谱

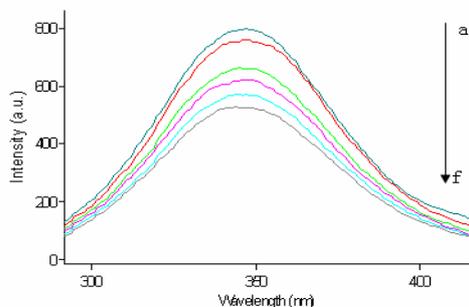
Fig.1 The fluorescent excitation and emission spectra

蛋白质中由于含有色氨酸和酪氨酸等氨基酸,因而具有内源性荧光。本实验发现,固定加入牛血清白蛋白的量,改变加入阿昔洛韦的量,随着阿昔洛韦浓度的逐渐增加,牛血清白蛋白的内源性荧光强度也有规律地逐渐降低,但发射峰位和峰形未发生改变,结果见图 2。由图可知,阿昔洛韦对牛血清白蛋白的荧光有猝灭作用。

本研究考察了 pH 对 BSA-ACV 体系荧光强度的影响,结果如图 3 所示。当 pH 在 7.0~8.2 之间时,阿昔洛韦对牛血清白蛋白荧光的猝灭作用最强,且猝灭程度相对较为稳定,当 pH >8 时荧光猝灭程度明显减弱,且随着 pH 的增大,荧光猝灭的程度逐步降低。本实验综合考虑人体体液酸度以及灵敏度,选择 pH 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液作为本体系的缓冲介质。

阿昔洛韦浓度对体系荧光强度的影响如图 4 所

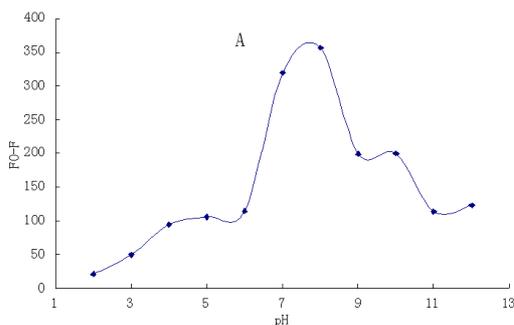
示。由图可知,随着阿昔洛韦浓度的逐渐增加,体系的荧光强度逐渐减弱,当阿昔洛韦浓度在  $2.5 \times 10^{-5} \sim 2.5 \times 10^{-4}$  mol/L 范围时,体系的荧光强度降低比较缓慢且变化不大。故实验中选用阿昔洛韦浓度为  $4.0 \times 10^{-5}$  mol/L。



BSA:  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $\lambda_{\text{ex}}=282 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=348 \text{ nm}$ , pH 7.4, Tris-HCl buffer,  $T=17^\circ \text{C}$ ,  $C_{\text{ACV}}(\times 10^{-5} \text{ mol/L})$   
a. 0; b. 1; c. 2; d. 3; e. 4; f. 5

图2 不同浓度的ACV对BSA荧光光谱的影响

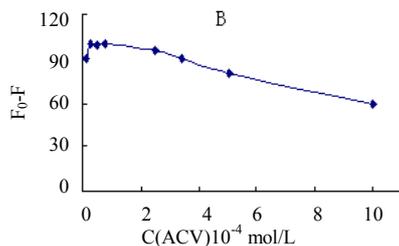
Fig.2 The effect of ACV on fluorescence spectra of BSA



$\lambda_{\text{ex}}=282 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=348 \text{ nm}$ , ACV:  $4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , BSA:  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $T=17^\circ \text{C}$

图3 pH对BSA-ACV体系荧光强度的影响

Fig.3 Effect of pH on  $F_0/F$

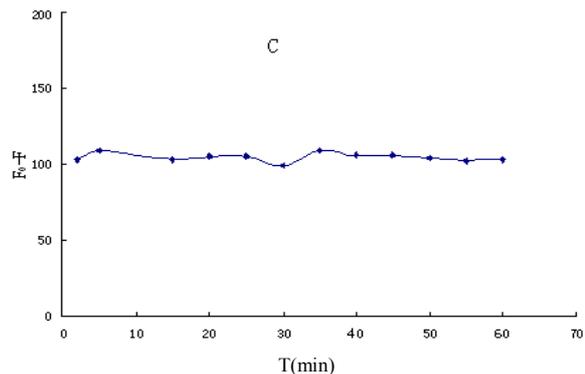


$\lambda_{\text{ex}}=282 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=348 \text{ nm}$ , pH 7.4, Tris-HCl buffer, BSA:  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $T=17^\circ \text{C}$

图4 ACV浓度对BSA-ACV体系荧光强度的影响

Fig.4 Effect of ACV concentration on  $F_0/F$

在以上所作的优化条件下,对反应时间对体系的影响作了考察研究,其结果如图5所示,BSA-ACV体系的荧光强度在60 min内没有明显变化,体系的荧光强度是比较稳定的。

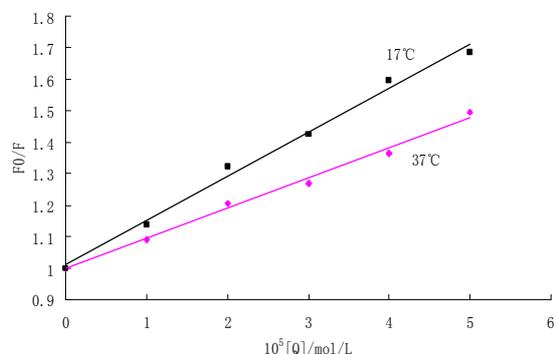


$\lambda_{\text{ex}}=282 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=348 \text{ nm}$ , pH 7.4, Tris-HCl buffer ACV:  $4 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , BSA:  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $T=17^\circ \text{C}$

图5 反应时间对BSA-ACV体系荧光强度的影响。

Fig.5 The effect of the reaction time on  $F_0/F$

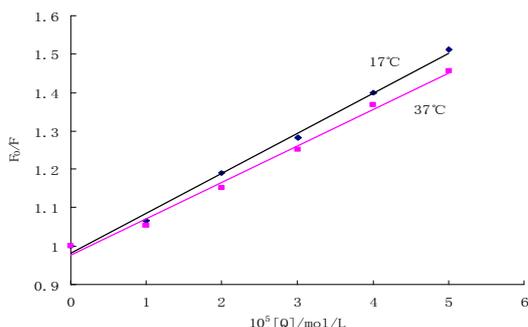
一般情况下,可以根据  $K_{\text{sv}}$  (结合常数) 随温度的变化情况来判断猝灭类型(动态猝灭或静态猝灭),若为动态猝灭作用,升高温度将提高荧光猝灭剂分子与荧光体之间的有效碰撞,并能够促进电子的转移,随着温度的升高  $K_{\text{sv}}$  将增大;若为静态猝灭作用,温度升高,将降低产物的稳定性,  $K_{\text{s}}$  (静态猝灭常数) 将减小<sup>[3]</sup>, 则表明猝灭为静态机制。其中,  $K_{\text{sv}}$  为动态猝灭常数,  $K_{\text{s}}$  为静态猝灭常数<sup>[6]</sup>。本研究中分别测定了在弱酸性、中性及弱碱性条件下两种温度下阿昔洛韦对牛血清白蛋白的荧光猝灭情况,并绘制阿昔洛韦作用于牛血清白蛋白的 stern-volmer 图。由图6、图7和图8中可以看出,不同酸度曲线有良好的线性关系,并且随着温度的升高,牛血清白蛋白的猝灭曲线的斜率降低即静态猝灭常数  $K_{\text{s}}$  减小。基本证明此过程的猝灭机理为静态猝灭。



[ACV]:  $0.5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , [BSA]:  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{ex}}=282 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=348 \text{ nm}$ ; Tris-HCl buffer

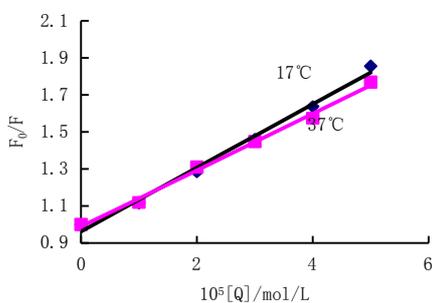
图6 pH=5,不同温度下ACV对BSA猝灭的stern-volmer图

Fig.6 pH=5, Stern-Volmer curve of BSA-ACV system under the different temperature



[ACV]:  $0.5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , [BSA]:  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{ex}}=282 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=348 \text{ nm}$ ; Tris-HCl buffer

图7 pH=7,不同温度下ACV对BSA猝灭的stern-volmer图  
Fig.7 pH=7, Stern-Volmer curve of BSA-ACV system under the different temperature



[ACV]:  $0.5 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ , [BSA]:  $0.05 \text{ mg L}^{-1}$ ;  $\lambda_{\text{ex}}=282 \text{ nm}$ ,  $\lambda_{\text{em}}=348 \text{ nm}$ ; Tris-HCl buffer

图8 pH=9,不同温度下ACV对BSA猝灭的stern-volmer图  
Fig.8 pH=9, Stern-Volmer curve of BSA-ACV system under the different temperature

为进一步证实其猝灭机理,把此过程按动态过程处理,猝灭过程符合以下方程:

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

由于白蛋白的荧光寿命约为  $1 \times 10^{-8} \text{ s}(\tau_0)$ , 结合猝灭曲线以及上式可求出  $K_q$  的数值,其数量级在  $10^{12}$  上(见表1),远远大于各种猝灭剂对生物大分子扩散的猝灭常数  $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。由此可见,引起阿昔洛韦对牛血清白蛋白荧光猝灭的主要原因并不是动态碰撞,而是络合物的形成而引起了静态猝灭。

对于静态猝灭过程,可按静态猝灭方程(Stern-Volmer方程)近似计算结合位点数及结合常数:

$$\lg \frac{F_0 - F}{F} = \lg K_A + n \lg [Q] \quad (2)$$

以  $\lg \frac{F_0 - F}{F}$  对  $\lg [Q]$  作图,可由图中的斜率和截距求得药物(ACV)与牛血清白蛋白分子的结合位点数  $n$  及结合常数  $K_A$ 。

计算表明,当阿昔洛韦的浓度在  $1 \sim 3 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时,  $\lg \frac{F_0 - F}{F}$  与  $\lg [Q]$  之间呈良好的线性关系,可得出  $17^\circ \text{C}$  时牛血清白蛋白与阿昔洛韦的结合位点数为  $n = 0.68$ ,说明阿昔洛韦与牛血清白蛋白结合率约为  $1:1$ ,结合常数  $K_A = 1.43 \times 10^4$ ;  $37^\circ \text{C}$  时牛血清白蛋白与阿昔洛韦的结合位点数  $n = 0.996$ ,说明阿昔洛韦与牛血清白蛋白结合率约为  $1:1$ ,结合常数  $K_A = 1.48 \times 10^4$ 。

表1 不同温度及pH值下BSA和ACV之间的猝灭过程速率常数

Table 1 The  $K_q$  of BSA-ACV of the different temperature and pH

pH	t (°C)	r (相关系数)	Ksv ( $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ )	Kq ( $\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ )
5.0	17	0.9921	$1.398 \times 10^4$	$1.398 \times 10^{12}$
	37	0.9936	$0.961 \times 10^4$	$0.961 \times 10^{12}$
7.0	17	0.9915	$1.044 \times 10^4$	$1.044 \times 10^{12}$
	37	0.9856	$0.952 \times 10^4$	$0.952 \times 10^{12}$
9.0	17	0.9942	$1.718 \times 10^4$	$1.718 \times 10^{12}$
	37	0.9878	$1.53 \times 10^4$	$1.53 \times 10^{12}$

一般情况下,生物大分子与药物小分子的相互作用力是比较复杂的,包含了静电作用、疏水作用力、范德华力等。通过测定药物分子与蛋白质分子反应的焓变  $\Delta H$  及熵变  $\Delta S$ ,可判断两者反应时的主要作用力类型。若温度的变化不太大,结合反应焓变  $\Delta H$  可以看成常数<sup>[7-8]</sup>。由热力学方程

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S$$

$$\Delta G = -R T \ln K$$

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

可求得反应的  $\Delta H$ 、 $\Delta S$  和  $\Delta G$  等热力学函数的变化值:

当  $\Delta H > 0$ ,  $\Delta S > 0$  时,表明此反应吸热,两反应物之间的作用力以疏水作用力为主<sup>[9-10]</sup>;

当  $\Delta H < 0$ ,  $\Delta S > 0$  时,表明此反应放热,两反应物之间的作用力以静电引力为主<sup>[11-13]</sup>;

当  $\Delta H > 0$ ,  $\Delta S < 0$  时,表明此反应吸热,两反应物之间的作用力以范德华引力为主<sup>[14]</sup>。

由不同温度下牛血清白蛋白与阿昔洛韦分子

的结合常数,求得:

$$\Delta H = 1.29 \text{ KJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

$$\Delta S = 84 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$$

结果见表 2。

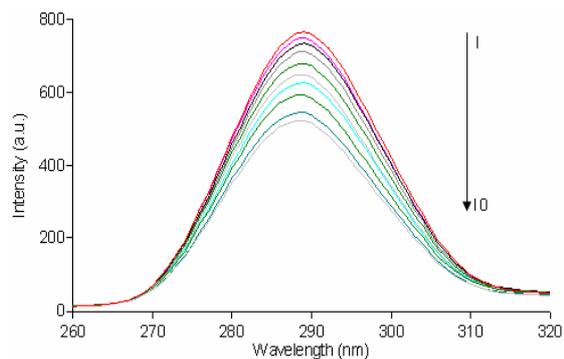
表 2 BSA 与 ACV 分子的结合常数  $K_A$  和热力学常数  
Table 2  $\Delta H, \Delta S$  values of the ACV and BSA reaction under two different temperatures

温度 (°C)	$K_A$ (结合常数)	$\Delta G$ (KJ/mol)	$\Delta H$ (KJ/mol)	$\Delta S$ (J/K)
17	$1.43 \times 10^4$	-23.07		
37	$1.48 \times 10^4$	-24.75	1.29	84

可见,牛血清白蛋白与阿昔洛韦分子的结合反应为吸热反应,二者之间的作用力以疏水作用力为主。

## 2.2 ACV-BSA 体系荧光猝灭机理初探

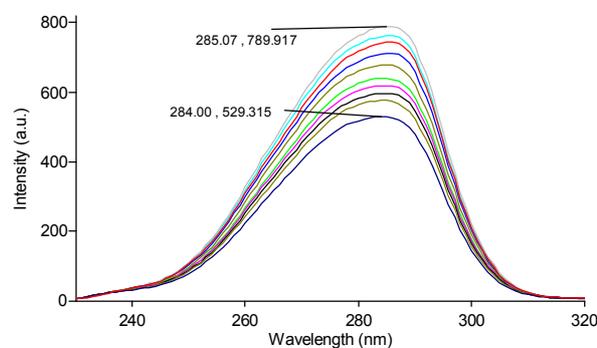
蛋白质的同步荧光光谱中,  $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$  时仅表现出酪氨酸残基发射的荧光,  $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$  时则显示色氨酸残基发射的荧光<sup>[15]</sup>。因氨基酸残基最大吸收波长与其所处环境的极性大小有关,所以,由发射波长的改变可判断蛋白质构象可能发生了变化。若最大的发射波长向长波长移动(红移),表明残基周围环境的极性有所增加,向短波长移动(蓝移)则表明残基周围环境的疏水性有所增加。本实验考察了阿昔洛韦对酪氨酸、色氨酸残基的影响(图 9、图 10)。由图可知,随着阿昔洛韦浓度的逐渐增大,色氨酸和酪氨酸残基的荧光强度逐渐降低,即阿昔洛韦能使牛血清白蛋白中氨基酸残基荧光发生猝灭,同时色氨酸残基的特征峰的位置发生了红移,表明阿昔洛韦与牛血清白蛋白之间的作用使其构象发生了改变,氨基酸残基周围的微环境疏水性有所减小,牛血清白蛋白内部的疏水结构有一定瓦解,肽链的伸展程度有所增加<sup>[15-16]</sup>。在图 3 中可以看出 pH 对 BSA-ACV 体系荧光强度有影响,据报道, pH 值不能影响 BSA 上酪氨酸残基的相对荧光强度,但可以影响 BSA 上色氨酸残基的相对荧光强度<sup>[17]</sup>。由图 9、图 10 可见,阿昔洛韦对酪氨酸残基的荧光光谱的影响比色氨酸残基要弱,可推测阿昔洛韦与牛血清白蛋白反应的结合位点应更接近色氨酸残基。



BSA: 0.05 g/L, 曲线 1~10 分别表示  $C_{ACV}$  ( $10^{-5} \text{ mol/L}$ ):  
0, 0.78, 0.93, 1.95, 3.90, 5.85, 7.80, 9.50, 11.85, 13.90

图 9 酪氨酸残基的同步荧光光谱

Fig. 9 Synchronization fluorescence spectrum of tyrosine (Tyr) residue of BSA.  $\Delta\lambda=15 \text{ nm}$



BSA: 0.05 g/L, 曲线 1~10 分别表示  $C_{ACV}$  ( $10^{-5} \text{ mol/L}$ ):  
0, 0.78, 0.93, 1.95, 3.90, 5.85, 7.80, 9.50, 11.85, 13.90

图 10 色氨酸残基的同步荧光光谱

Fig.10 Synchronization fluorescence spectrum of tryptophan (Trp) residue of BSA.  $\Delta\lambda=60 \text{ nm}$

药物小分子以络合物的形式与血清白蛋白结合,由偶极-偶极非辐射能量转移理论(Förster理论)<sup>[18-19]</sup>,可以求出药物分子与血清白蛋白的结合位点与发出荧光基团间的距离,若距离小,则药物分子易于被蛋白质结合并转运,有利于药物发挥作用。

受体-给体间的距离  $r$  与能量转移效率的关系:

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6} \quad (3)$$

$R_0$  为  $E$  (能量转移效率) 等于 50% 时的距离,

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

$K$ : 偶极空间取向因子,  $n$ : 介质折射指数,  $\Phi$ : 给体(蛋白)的光量子效率,  $J$ : 给体荧光吸收光谱与

受体(药物) 发射光谱间的光谱相互重叠的部分:

$$J = \frac{\sum(F(\lambda) \cdot \varepsilon(\lambda) \cdot \lambda^4 \cdot \Delta\lambda)}{\sum(F(\lambda) \cdot \Delta\lambda)} \quad (5)$$

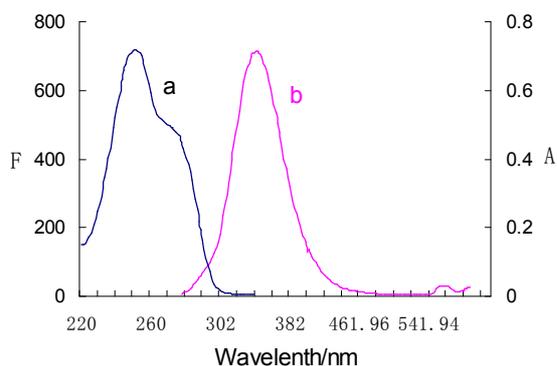
$F(\lambda)$ : 荧光给体在波长 $\lambda$ 处的荧光强度,  $\varepsilon(\lambda)$ : 受体在波长 $\lambda$ 处的摩尔吸收系数。E (能量转移效率) 由下式可求:

$$E = 1 - \frac{F}{F_0} \quad (6)$$

先由公式求出E,  $K^2$  及n, 通过光谱测定求出积分面积J, 带入公式可计算出 $R_0$ 和r. 把BSA的荧光光谱数据及与BSA等物质量的ACV的紫外吸收光谱数据分别输入Matlab 5.3程序, 如图11所示: 生理条件 (pH = 7.4 , 37 °C) 下, 牛血清白蛋白与阿昔洛韦物质的量为1 : 1时BSA的荧光光谱和ACV吸收光谱的重叠图. 运用Matlab 5.3程序进行处理可求得图中光谱重叠部分的面积, 即积分面积

$$J = 2.601 \times 10^{-14} \text{ cm}^3 \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \quad (7)$$

取向因子选取两结合物各项随机分布平均值:  $K^2 = 2/3$ <sup>[20]</sup>, 牛血清白蛋白中色氨酸残基量子效率取  $\Phi = 0.118$ <sup>[21]</sup> (BSA的内源性荧光主要由色氨酸产生<sup>[6]</sup>), 折射指数为水和有机物的平均值:  $n = 1.336$ <sup>[22]</sup>, 将以上各数据带入公式(4), 求得临界距离 $R_0 = 2.86 \text{ nm}$ , 根据式(6)求得能量转移效率 $E = 0.3732$ , 然后将 $R_0$ 和E带入公式(3)即求出BSA中色氨酸与ACV分子间的距离 $r = 3.138 \text{ nm}$ .



a:ACV's absorption spectrum ; b :BSA's fluorescence spectrum ,  $\lambda_{ex} = 280 \text{ nm}$

图11 BSA的荧光光谱与ACV的紫外吸收光谱的重叠图  
Fig.11 BSA's fluorescence spectrum and ACV's absorption spectrum

### 3 小结

本研究经实验发现阿昔洛韦会使牛血清白蛋白的荧光发生猝灭, 并由实验数据推论在弱酸性、弱碱性及中性条件下该猝灭均为静态猝灭. 生理条件下BSA-ACV体系表观结合常数 $K_A$ 为 $1.48 \times 10^4$ , 结合位点数n约为1. 并推测阿昔洛韦与白蛋白结合位点更接近于色氨酸残基. 牛血清白蛋白中色氨酸残基与阿昔洛韦分子间的距离为3.138 nm.

由以上结论可以推测, 生理条件下阿昔洛韦可能是通过与白蛋白上的色氨酸残基以疏水作用力结合, 形成亲和力较强的络合物, 之后被白蛋白所贮存、运载, 然后经血液循环到达病灶而起作用.

### 参考文献:

- [1] 周元瑶. 药物分析: 阿昔洛韦(上)[J]. 中国药师,1998, 1(1): 14-17.
- [2] 郭宗儒. 药物化学总论[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1994.
- [3] 陈国珍,黄贤智,郑朱梓,等. 荧光分析方法[M]. 3 版.北京:科学出版社, 2006:122-123.
- [4] 朱铿,童沈阳. 吡呱酸、氟呱酸与 HSA、IgG 相互作用的研究[J]. 化学学报, 1997, 55(4): 405-410.
- [5] Lakowicz J R, Weber G. Quenching of protein fluorescence by oxygen. Detection of structural fluctuations in proteins on the nanosecond time scale[J]. Biochem, 1973,12(21):4171-4179.
- [6] 马春琪,李克安,张凤林,等. 牛血清白蛋白与铬天青 S 作用机理的研究[J]. 化学学报, 1999, 57(4): 389-395.
- [7] 马贵斌,杨频. 荧光法研究血清白蛋白与药物的结合作用[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 1992, 8(5): 624-629.
- [8] 朱铿,童沈阳. 荧光黄与蛋白质相互作用的研究[J]. 高等学校化学学报, 1996, 17(4): 539-542.
- [9] Pesavento M, Profumo A. Interaction of serum albumin with a sulphonated azo dye in acidic solution[J]. Talanta, 1991, 38(10): 1099-1106.
- [10] 江崇球,王敬政,王洪鉴,等. 多沙唑嗪与血清白蛋白的作用及血清中多沙唑嗪含量的荧光测定法研究[J]. 分析化学, 1999, 27(8): 894-898.
- [11] Klotz I M, Urquhart J M. The binding of organic ions by proteins. Effect of temperature[J]. Journal of the

- American Chemical Society, 1949, 71(3): 847-851.
- [12] Tanford C. Physical Chemistry of Macromolecules[M]. New York:John Wiley and Sons., 1971:526.
- [13] Tanford C. The hydrophobic effect:formation of micelles and biological membranes[J]. New York :John Wiley and Sons., 1973: 12.
- [14] Ross P D, Subramanian S.Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability[J]. Biochemistry, 1981, 20(11): 3096-3102.
- [15] 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.
- [16] 王建林,付连春,周实武,等. 维生素 B6 与人血清白蛋白的相互作用[J]. 光谱学与光谱分析, 2005,25(06): 912-915.
- [17] Qiu B,Guo L H, Chen M L, et al. Study on interaction between a new fluorescent probe 2-methylbenzo[b][1,10]phenanthroline-7(12H)-one and BSA[J]. Analyst, 2011, 136: 973-978.
- [18] 冯喜增,金瑞祥,曲芸,等. 各种离子对血卟啉与牛血清白蛋白相互结合反应的影响研究[J]. 高等学校化学学报, 1996, 17(6): 866-869.
- [19] 颜承农,上官云凤,童金强,等. 双噻达莫与牛血清白蛋白结合热力学特征的荧光光谱法研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(3): 543-546.
- [20] 商志才,易平贵,俞庆森,等. 环丙沙星与牛血清白蛋白的结合反应[J]. 物理化学学报, 2001, 17(1): 48-52.
- [21] 郭灿城,李和平,张晓兵,等. Meso-5,10,15,20-四[4-(N-吡咯烷基)苯基]卟啉的合成及对牛血清白蛋白的作用[J]. 高等学校化学学报, 2003, 24(2): 282-287.
- [22] Southampton Electrochemistry Group. Instrumental Methods in electrochemistry[M]. England :Ellis Horwood Limited, 1985.
- [23] 严拯宇, 秀芬,姜新民,等. 巴洛沙星与牛血清白蛋白相互作用的研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2006,26(8): 1494-1498.
- [24] 费燕. 创新药物西那沙星与生物大分子的相互作用机制研究[D]. 上海:第二军医大学,2008.

(上接第99页)

#### 参考文献:

- [1] 周俊英,刘英辉,周东方,等. 脂联素-沉默信息调节因子1-腺苷酸激活蛋白激酶通路在大鼠酒精性脂肪肝发病机制中的作用[J]. 中华肝脏病杂志, 2015,23(9):711-714.
- [2] 李国春. 赶黄草对大鼠酒精性脂肪肝的保护作用及机制[J]. 中国老年医学杂志, 2015,35(4):3845-3847.
- [3] 乌日图那顺,包纳日斯. 地格达-4对酒精性脂肪肝模型大鼠氧化指标的影响[J]. 中国中医急症, 2014,23(9): 1598-1601.
- [4] 刘森琴,葛林. 葛根散对酒精性脂肪肝大鼠肝功能损伤的影响[J]. 河北中医, 2013,35(11): 1703-1706.
- [5] 杨超燕,吉国辉,何伟,等. 参芎滴丸对心肌缺血大鼠抗脂质过氧化损伤的保护作用[J]. 井冈山大学学报:自然科学版, 2015,36(4):84-89.
- [6] 肖碧跃,赵国荣,贺又舜,等. 理脾护肝调脂丸对脂肪肝大鼠肝脏MDA、SOD影响的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011,17(11):230-233.
- [7] 王利国,唐灿. 巴中产栀子对大鼠肝损伤保肝降酶药理效应研究[J]. 井冈山大学学报:自然科学版, 2015, 36(1):91-94.
- [8] 刘祥兰,徐颖,张钰泉,等. 猪苓多糖降血脂抗大鼠酒精性脂肪肝的药理实验研究[J]. 中成药, 2013,35(8): 1760-1763.
- [9] 楼锦英,李雄英,陈素红,等. 复方虎杖提取物对高脂血症大鼠肝脏的影响[J]. 浙江中医杂志, 2013,49(6):400-402.