

# 中药活性成分根皮素与人血清白蛋白相互作用机制研究

王迎进\*, 连晓丽, 郝晓玲, 周冬, 张海容  
(忻州师范学院生化分析技术研究所, 山西 忻州 034000)

**[摘要]** **目的:**研究根皮素(phloretin)与人血清白蛋白(HSA)的作用机制。**方法:**在模拟生理条件下,采用荧光光谱研究 phloretin 与 HSA 之间的猝灭类型,计算二者之间的结合常数、结合位点数及结合距离等。**结果:**Phloretin 能使 HSA 发生内源荧光猝灭,属静态猝灭机制。在 298,303,313 K 下,phloretin 与 HSA 结合常数分别为  $1.5181 \times 10^5$ ,  $9.4412 \times 10^4$ ,  $5.4178 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ , 结合位点数  $n$  近似为 1;热力学分析表明 phloretin 与 HSA 间结合力为疏水作用;根据 Förster 非辐射能量转移理论求得二者结合距离为 4.27 nm;同步荧光光谱表明 phloretin 对 HSA 构象影响较小;金属离子的介入会影响 phloretin 与 HSA 的结合能力。**结论:**荧光光谱法适合于研究根皮素与人血清白蛋白的结合反应,具有简便快速,灵敏度高等优点。

**[关键词]** 根皮素; 人血清白蛋白; 荧光猝灭; 热力学参数

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0178-05

**[doi]** 10.11653/syfy2013150178

## Binding Mechanism of Phloretin and Human Serum Albumin

WANG Ying-jin\*, LIAN Xiao-li, HAO Xiao-ling, ZHOU Dong, ZHANG Hai-rong  
(Institute of Biochemical Analysis, Xinzhou Normal College, Xinzhou 034000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the mechanism of interaction between phloretin and human serum albumin (HSA). **Method:** The binding constant, binding site and binding distance was investigated by fluorescence spectrometry. **Result:** Phloretin could induce an endogenous fluorescence quenching of HSA under a mechanism of static quenching. The binding constants were determined to be  $1.5181 \times 10^5$  (298 K),  $9.4412 \times 10^4$  (303 K) and  $5.4178 \times 10^4$  (313 K)  $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ , respectively. The binding site ( $n$ ) was about 1. The thermodynamic parameters suggested that the interaction forces between phloretin and HSA were mainly hydrophobic force. According to Förster nonradiation energy transfer mechanism, the binding distance was estimated to be 4.27 nm. The results obtained from synchronous fluorescence spectra showed that phloretin had only a slight influence on the HSA conformation. The common ions could affect the binding constant of phloretin-HSA complex. **Conclusion:** Fluorometric analysis is a good method for the study on phloretin-HSA binding reaction. It has the advantages of high speed and high sensitivity.

**[Key words]** phloretin; human serum albumin; fluorescence quenching; thermodynamic parameter

根皮素(phloretin)是一种具有明显生物活性的天然化合物,其化学成分是 3-(4-羟基苯基)-1-(2,4,6-三羟基苯基)-1-丙酮,主要是分布于苹果、梨等

水果的果皮及根皮中。现代药理学研究表明,phloretin 具有抗氧化、抗突变、抗炎及抗肿瘤等生理功效<sup>[1-2]</sup>。人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)是人血浆中最丰富的功能蛋白,也是人体内重要的小分子药物结合蛋白,具有运输转运脂肪酸、氨基酸以及多种药物功能。在模拟生理条件下研究药物与 HSA 的相互作用,不仅可以获得重要的药效学信息,而且对解释血清蛋白质的结构及功能具有重要意义。本实验采用荧光光谱和紫外光谱法研究了 phloretin 与 HSA 的相互作用机制,得到了 phloretin

**[收稿日期]** 20121218(008)

**[基金项目]** 山西省留学回国人员科技活动择优资助项目(2010-97);忻州师范学院大学生科技创新项目(2012-26)

**[通讯作者]** \*王迎进,硕士,讲师,从事天然产物提取、分离及生物活性研究, E-mail: yingjinyaya@hotmail.com

与 HSA 相互作用的猝灭常数、结合常数、结合位点数及结合距离,根据热力学参数确定了其相互作用力类型,采用同步荧光光谱法研究了 phloretin 对 HSA 构象的影响,并考察了金属离子对 phloretin 与 HSA 结合作用的影响,为阐明 phloretin 在体内的输送和代谢过程、了解其生物学作用机制提供了实验依据。

## 1 仪器与试剂

F-4500 型荧光分光光度计(日本,日立公司),UV-2550 紫外-可见分光光度计(日本,岛津公司),501A 型超级数显恒温水浴(上海浦东荣丰科学仪器有限公司)。

人血清白蛋白 HSA(99%,Sigma 公司),称取人血清白蛋白配制成  $1.5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  标准液,置于冰箱中  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  保存。phloretin(95%,北京索莱宝科技有限公司),准确称取 phloretin 配制成  $5.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  标准溶液;BR 缓冲溶液(pH 7.40);水为二次蒸馏水,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法

准确移取一定体积的 phloretin 标准溶液于 10 mL 比色管中,加入 1.0 mL HSA 标准溶液,2.0 mL B-R 缓冲溶液,以蒸馏水定容至刻度,恒温水浴 30 min。以 285 nm 为激发波长,激发和发射狭缝均为 5 nm,恒温扫描一定波长范围内 HSA 的荧光发射光谱,HSA 在 phloretin 作用下的荧光猝灭光谱,同步荧光光谱( $\Delta\lambda = 15, 60 \text{ nm}$ )及紫外吸收光谱。

## 3 结果与讨论

**3.1 Phloretin 对 HSA 的荧光猝灭光谱** 蛋白质中因含有色氨酸、酪氨酸及苯并氨酸残基而发射较强的内源荧光。在选定条件下,对一系列含同浓度 HSA 与不同浓度 phloretin 溶液进行荧光测定,结果如图 1 所示。可见,HSA 在 340 nm 处有较强的荧光,随着 phloretin 浓度的增加,340 nm 附近的荧光强度被有规律地猝灭,说明 phloretin 与 HSA 发生了相互作用。

**3.2 荧光猝灭机制及猝灭常数的测定** 引起 HSA 荧光猝灭的原因可能有动态猝灭和静态猝灭两种。

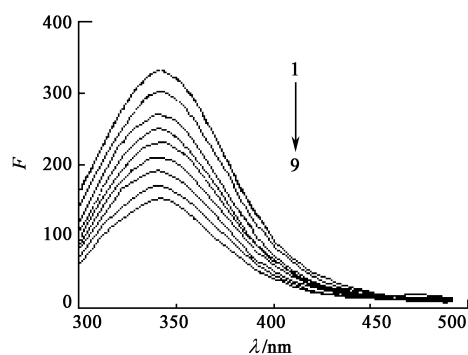


图 1 Phloretin 对 HSA 的荧光猝灭光谱(298 K)

动态猝灭是猝灭剂和荧光分子之间因彼此扩散和碰撞导致荧光物质荧光减弱的现象,其猝灭过程遵循 Stern-Volmer 方程<sup>[3]</sup>。

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

式中  $F_0$  和  $F$  分别为未加入和加入 phloretin 时 HSA 的荧光强度; $K_q$  为双分子猝灭过程的猝灭速率常数( $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ); $\tau_0$  无猝灭剂时荧光分子的平均寿命; $K_{sv}$  为 Stern-Volmer 猝灭常数( $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ );生物大分子荧光寿命大约为  $10^{-8} \text{ s}$ <sup>[4]</sup>。

静态猝灭是由于猝灭剂与荧光物质相作用而生成了一定构型化合物,导致荧光物质荧光强度减弱的现象。静态猝灭过程符合 Lineweaver-Bruk 双倒数方程<sup>[5]</sup>:

$$(F_0 - F)^{-1} = F_0^{-1} + K_{LB}^{-1} + F_0^{-1}[Q]^{-1} \quad (2)$$

式中: $K_{LB}$  为猝灭剂与荧光物质的结合常数,也称作 Lineweaver-Bruk 猝灭常数。随温度的升高动态猝灭常数会增大,而静态猝灭常数随之减小,由此可判断荧光猝灭类型。

按试验方法分别测定温度 298,303,313 K 时体系的荧光猝灭光谱,据式(1)作 HSA 荧光猝灭的 Stern-Volmer 曲线,据式(2)作双倒数曲线,得到线性回归方程及相关系数( $r$ ),可计算得到猝灭常数( $K_{sv}$ )及结合常数( $K_{LB}$ ),结果见表 1。

由表 1 可知,随温度升高,phloretin 与 HSA 作用的猝灭速率常数( $K_q$ )逐渐降低,且  $K_q$  远大于各类猝灭剂对生物大分子的  $K_q$  最大值( $2 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ );结合常数  $K_{LB}$  随温度的升高而减小;均证

表 1 猝灭反应常数

| T/K | Stern-Volmer                            |  |         | Lineweaver-Bruk                         |         |
|-----|---|--|---------|---|---------|
|     | $K_{sv}/\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$ | $K_q/\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ | $r$     | $K_{LB}/\text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ | $r$     |
| 298 | $1.140 2 \times 10^5$                   | $1.140 2 \times 10^{13}$                                 | 0.999 8 | $1.090 2 \times 10^5$                   | 0.999 8 |
| 303 | $1.067 1 \times 10^5$                   | $1.067 1 \times 10^{13}$                                 | 0.999 6 | $1.008 9 \times 10^5$                   | 0.999 6 |
| 313 | $8.280 0 \times 10^4$                   | $8.280 0 \times 10^{12}$                                 | 0.997 4 | $4.891 0 \times 10^4$                   | 0.999 6 |

明 phloretin 对 HSA 的荧光猝灭不是动态猝灭,而是由 phloretin 与 HSA 之间形成了配合物而引起的静态猝灭<sup>[6]</sup>。

**3.3 Phloretin 与 HSA 的紫外吸收光谱** 紫外吸收光谱是检测是否生成复合物的一种简单有效方法, phloretin 与 HSA 相互作用的紫外吸收光谱见图 2, 由图 2 可知, HSA 在 277.0 nm 下有一强吸收峰, 当加入 phloretin 后, 吸收强度随 phloretin 浓度的增加逐渐增强, 并且 HSA 最大吸收峰发生了明显红移(从 277 nm 增加到 284 nm)。进一步证明了 HSA 的荧光猝灭过程为 phloretin 与 HSA 形成配合物而引起的静态猝灭<sup>[7]</sup>。

**3.4 Phloretin 与 HSA 的结合常数和结合位点数** 对于静态猝灭, 荧光强度与猝灭剂的关系可有结合常数表达式<sup>[8]</sup> (3) 推导求出。

$$\lg[(F_0 - F)/F] = \lg K_b + n \lg[Q] \quad (3)$$

将  $\lg[(F_0 - F)/F]$  对  $\lg[Q]$  作图, 根据截距和

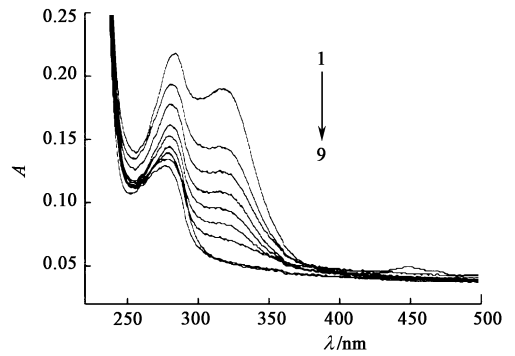


图 2 Phloretin 对 HSA 的紫外吸收光谱 (298 K)

斜率可求得相应  $K_b$  和  $n$ 。结果见表 2。由表 2 可知, phloretin 与 HSA 的结合位点数  $n$  接近 1, 说明 phloretin 与 HSA 可形成一个结合位点。结合常数  $K_b$  值较大(在  $10^4$  数量级上), 并且随着温度的升高而减小, 表明 phloretin 与 HSA 之间有较强的结合作用, 可以被蛋白质运输和储存。

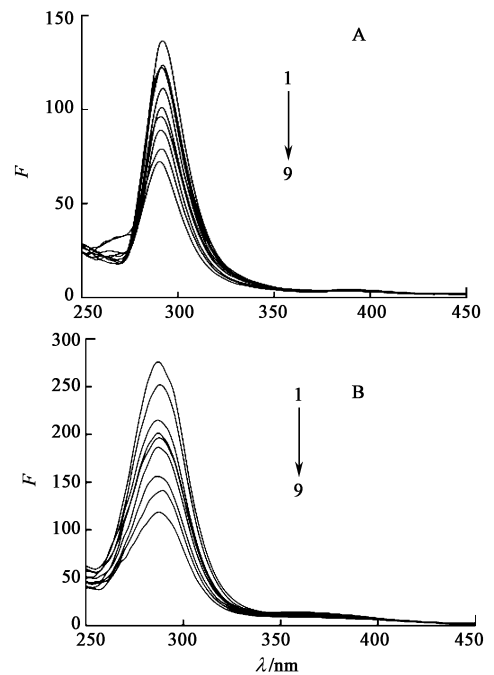
表 2 结合常数、结合位点数和热力学参数

| $T/K$ | $K_b/L \cdot mol^{-1}$ | $n$     | $r$     | $\Delta_r H_m / kJ \cdot mol^{-1}$ | $\Delta_r G_m / kJ \cdot mol^{-1}$ | $\Delta_r S_m / J \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$ |
|-------|------------------------|---------|---------|------------------------------------|------------------------------------|--|
| 298   | $1.5181 \times 10^5$   | 1.025 5 | 0.999 6 | 53.28                              | -29.56                             | 277.99   |
| 303   | $9.4412 \times 10^4$   | 0.991 0 | 0.999 6 |                                    | -28.39                             |  |
| 313   | $5.4178 \times 10^4$   | 0.979 5 | 0.996 9 |                                    | -27.01                             |  |

**3.5 Phloretin 与 HSA 结合反应的热力学性质及作用力** 分子间的作用力包括氢键、范德华力、静电引力和疏水作用。当温度变化不大时, 反应的焓变  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  可认为是常数。由热力学公式可计算 phloretin 与 HSA 相互作用的热力学函数值, 结果见表 2。由表 2 可知, phloretin 与 HSA 相互作用的过程是一个吸热熵增加的过程。根据 Ross 等<sup>[9]</sup> 总结的生物大分子与小分子作用力类型的热力学规律, 结合过程  $\Delta_r H_m > 0$ ,  $\Delta_r S_m > 0$ , 可以推测 phloretin 对 HSA 之间的作用力是以为疏水作用为主。

**3.6 同步荧光光谱**  $\Delta\lambda = 15, 60$  nm 的同步荧光光谱分别显示酪氨酸残基和色氨酸残基的光谱特征<sup>[10]</sup>。固定 HSA 浓度逐渐增加 phloretin 浓度时, 记录  $\Delta\lambda = 15$  nm 和  $\Delta\lambda = 60$  nm 同步荧光光谱(图 3)。

由图 3 可知, 酪氨酸残基和色氨酸残基的最大发射波长基本保持不变, 说明 phloretin 的加入对酪氨酸残基和色氨酸残基的微环境影响较小<sup>[11]</sup>。另外, 色氨酸残基的荧光强度降低比酪氨酸残基显著, 说明 HSA 的荧光主要由色氨酸残基所贡献,



A.  $\Delta\lambda = 15$  nm; B.  $\Delta\lambda = 60$  nm

图 3 同步荧光光谱

phloretin 与 HSA 的结合位点更接近于色氨酸残基。

**3.7 phloretin 和 HSA 作用距离计算** 根据 Förster

偶极-偶极非辐射能量转移理论<sup>[12]</sup>,可以求出小分子与蛋白质分子中发荧光基团之间的距离,距离越小,药物分子越有利于被蛋白质储存与运输,越能发挥其药理作用,能量转移效率  $E$  与给体-受体间的距离  $r$  的关系为:

$$E = 1/[1 + (r/R_0)^6] \quad (4)$$

能量转移效率( $E$ )为50%时临界距离  $R_0$  (福斯特距离)为:

$$R_0^6 = 8.8 \times 10^{-25} (K^2 n^{-4} \Phi_D J) \quad (5)$$

式中, $K$ 为供体和受体各项随机分布的取向因子, $n$ 为介质的折射指数, $\Phi_D$ 为给体的荧光量子产率, $J$ 为供体的发射光谱与受体的吸收光谱二者重叠积分。

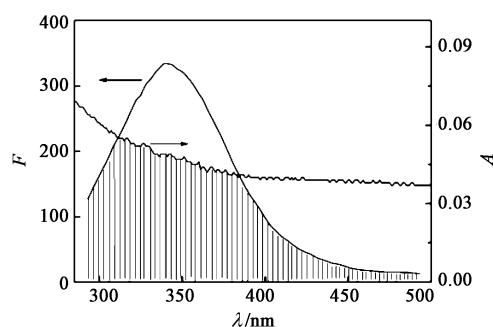
$$J = \frac{\sum F_D(\bar{\nu}) \varepsilon_A(\bar{\nu})}{\sum F_D(\bar{\nu}) \Delta \bar{\nu}} \quad (6)$$

$FD(\bar{\nu})$ 为供体在  $\bar{\nu}$  至  $\bar{\nu} + d\bar{\nu}$  波数间隔内的校正荧光强度,荧光总强度归一化为1, $\varepsilon_A(\bar{\nu})$ 为受体在波数  $\bar{\nu}$  的摩尔吸光系数。能量转移效率  $E$  可用式(7)计算:

$$E = 1 - F/F_0 \quad (7)$$

只要得到  $E, K^2$  和  $n$  并通过测定光谱求出积分  $J$ ,就可计算出  $R_0$  和  $r$ 。

HSA 的荧光光谱和 phloretin 的吸收光谱见图4,将光谱重叠部分分割成极小的矩形,通过式(6)求得重叠积分  $J(\nu) = 5.07 \times 10^{-14}$ 。



$$c_{\text{HSA}} = 1.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}; c_{\text{phloretin}} = 1.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

图4 HSA 的荧光光谱与 phloretin 的吸收光谱

上述实验条件下,取向因子供体受体各项随机分布的平均值  $K^2 = 2/3$ ,  $n$  折射指数取水和有机物平均值  $n = 1.336$ ,  $\Phi_D = 0.118$ <sup>[13]</sup>,将上述数值代入式(5)求得  $R_0 = 3.21 \text{ nm}$ 。再用 phloretin 与 HSA 等摩尔混合后的荧光强度,通过式(7)计算得到能量转移效率  $E = 0.154$ 。经式(4)求得 phloretin 距色氨酸残基最短距离  $r = 4.27 \text{ nm}$ ,说明 phloretin 与 HSA 足够靠近( $r < 7 \text{ nm}$ ),其结合是通过非辐射能量转移

而促使蛋白质的荧光猝灭。

**3.8 金属离子干扰** 生物体内含有多种微量元素,这些元素共同参与各种生命活动。研究微量元素与生物体的作用机制,可以深刻了解微量元素在生物体内的生理功能。因此,研究了  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  4种金属离子对 phloretin-HSA 结合体系的影响,结果见表3。由表3可知,  $\text{Mg}^{2+}$  的介入降低了 phloretin 与 HSA 的结合常数,可能原因是生成了  $\text{Mg}^{2+}$ -HSA 复合物,而  $\text{Mg}^{2+}$ -HSA 复合物的形成会影响 HSA 的构象,进而影响 phloretin 的结合能力,抑制了 phloretin 与 HSA 的结合。而  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  介入,增加了 phloretin 与 HSA 的结合常数,原因可能是  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  在 phloretin 与 HSA 分子之间起到了“离子架桥作用”,通过金属离子的桥联作用形成了 phloretin- $\text{M}^{n+}$ -HSA 复合物<sup>[14]</sup>。

表3 金属离子对 phloretin-HSA 体系结合常数的影响(298 K)

| System                             | $K_b/\text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ | $n$     | $r$     |
|------------------------------------|--------------------------------------|---------|---------|
| HSA + phloretin                    | $0.9870 \times 10^5$                 | 0.989 0 | 0.997 2 |
| HSA + phloretin + $\text{Mg}^{2+}$ | $6.4580 \times 10^4$                 | 0.951 8 | 0.974 2 |
| HSA + phloretin + $\text{Al}^{3+}$ | $2.1792 \times 10^5$                 | 1.038 6 | 0.987 1 |
| HSA + phloretin + $\text{Ca}^{2+}$ | $5.6546 \times 10^6$                 | 1.344 3 | 0.975 4 |
| HSA + phloretin + $\text{Fe}^{3+}$ | $4.9865 \times 10^6$                 | 1.330 9 | 0.969 8 |

## 4 结论

phloretin 对 HSA 的荧光存在猝灭作用,其荧光猝灭过程是由于形成复合物而引起的静态猝灭,且发生了分子内的非辐射能量转移。根据热力学参数与作用力关系确定二者之间存在疏水相互作用;同步荧光光谱表明 phloretin 的加入对 HSA 的构象影响较小;金属离子的存在会影响 phloretin 与 HSA 的结合能力。

## [参考文献]

- [1] 李翠苹,余燕影,曹树稳. 根皮素乙酰阿魏酸酯的合成及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(3):316.
- [2] 陆晓宇,曾耀英,叶燕霞,等. 根皮素的抗炎和免疫抑制作用[J], 药学报, 2009, 44(5):480.
- [3] 杨频,高飞. 生物无机化学原理[M]. 北京:科学出版社, 2002.
- [4] Lakowica J R, Weber G. Quenching of fluorescence by oxygen-probe for structural fluctuations in macromolecules [J]. Biochemistry, 1973, 12(21):4161.
- [5] 姜吉刚. 荧光光谱法研究丹参酮 I 与人血清白蛋白的相互作用[J]. 理化检验-化学分册, 2010, 46(11):1286.

# 大鼠脑缺血/再灌注后 AQP4 的表达与脑水肿的关系

王秀辉<sup>1,2</sup>, 郑咏秋<sup>1</sup>, 姚明江<sup>1</sup>, 宋文婷<sup>1</sup>, 高俊峰<sup>1</sup>, 张鹏<sup>1\*</sup>, 刘建勋<sup>1</sup>

(1. 中国中医科学院西苑医院实验研究中心, 北京 100091;

2. 北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] 目的:探讨在大鼠脑缺血/再灌注脑水肿中水通道蛋白-4(AQP4)表达水平的动态变化与脑含水量之间的关系。方法:50 只 SD 大鼠,随机分为假手术组和 6,12,24,48 h 脑缺血/再灌注模型组,Western blot 法测定 AQP4 的表达,干湿重法测定脑含水量。结果:与假手术组比较,模型组大鼠缺血侧脑含水量和 AQP4 的表达水平随着时间的推移不断增加,均在 24 h 时达到最高峰;12~24 h 时间段脑含水量显著增加( $P < 0.01$ ),以及 AQP4 表达水平升高,48 h 时两者均稍有下降。而健侧脑含水量和 AQP4 的表达水平各时间点之间差异不显著。采用 Spearman 相关性分析结果显示,脑含水量和 AQP4 表达水平相关性显著( $P < 0.05$ )。结论:大鼠脑缺血/再灌注后脑含水量和 AQP4 表达水平变化趋势基本一致,两者呈时相正相关性。

[关键词] 水通道蛋白-4; 脑缺血/再灌注; 脑水肿

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2013)15-0182-04

[doi] 10.11653/syfy2013150182

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130527.1141.007.html>

[网络出版时间] 2013-05-27 11:41

## Relationship between AQP4 Expression and Brain Water Content after Cerebral Ischemic/Reperfusion in Rats

WANG Xiu-hui<sup>1,2</sup>, ZHENG Yong-qiu<sup>1</sup>, YAO Ming-jiang<sup>1</sup>, SONG Wen-ting<sup>1</sup>,  
GAO Jun-feng<sup>1</sup>, ZHANG Peng<sup>1\*</sup>, LIU Jian-xun<sup>1</sup>

(1. Center of Experiment, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China;

[收稿日期] 20121127(032)

[基金项目] 国家科技部“重大新药创制”项目(2009ZX09103-317, 2009ZX09502-014, 2009ZX09301-005-007)

[第一作者] 王秀辉, 硕士研究生, 从事中药复方药效物质基础研究, E-mail: demon\_new@sina.cn

[通讯作者] \* 张鹏, 副研究员, 从事中药复方药效物质基础研究, Tel:010-62835640, E-mail: onflow@sina.com

- [6] 李玉琴, 贾宝秀, 姚晓军, 等. 光谱法与分子模拟对左旋紫草素和人血白蛋白键合作用的研究[J]. 分析测试学报, 2009, 28(12):1396.
- [7] Ge F, Chen C Y, Liu D Q, et al. Study on the interaction between theasinesin and human serum albumin by fluorescence spectroscopy [J]. J Luminescence, 2010, 130(1):168.
- [8] 王帅, 王海, 王日为. 天竺葵素与人血清白蛋白相互作用的光谱学研究[J]. 分析科学学报, 2011, 27(5):627.
- [9] Ross P D, Subramanian S. Thermodynamics of protein association reactions; forces contributing to stability[J]. Biochemistry, 1981, 20(11):3096.
- [10] 刘彩虹, 李玉琴, 贾宝秀, 等. 黄芩苷与人血清白蛋白的相互作用研究[J]. 分析测试学报, 2011, 30(5):532.
- [11] 尚永辉, 李华, 孙家娟. 荧光光谱法研究木犀草素与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 分析科学学报, 2011, 27(2):179.
- [12] Förster T, Sinanoglu O. Modern quantum chemistry [M]. Newyork:Academic Press,1966.
- [13] 陈国珍, 黄贤智, 许金钧. 荧光分析法[M]. 北京:科学出版社, 1990.
- [14] 王宁, 刘忠英, 胡秀丽, 等. 黄芩类药物与人血清白蛋白的相互作用[J]. 高等学校化学学报, 2011, 32(2):241.

[责任编辑 邹晓翠]