

球形纳米金与牛血清白蛋白的相互作用*

李文博¹ 史宏超¹ 林英豪¹ 李 森¹ 李 姝¹ 刘晓阳¹ 徐 静^{2△} 徐香玉^{1△}

(¹ 济宁医学院基础医学院, 济宁 272067; ² 济宁医学院附属医院, 济宁 272029)

摘 要 **目的** 探索球形纳米金与牛血清白蛋白(BSA)之间的相互作用,获得相应的热力学参数以及猝灭机理。**方法** 利用紫外可见吸收光谱法和荧光光谱法对反应体系进行光谱学实验。利用圆二色谱法对 BSA 的分子结构进行研究。**结果** 随着球形纳米金溶液浓度的增加,反应体系的紫外吸收峰强度增大,而荧光强度却明显猝灭且荧光峰位由 278 nm 蓝移到了 268 nm。3 种温度(298K, 303K, 308K)下的 K_q 值分别为 3.513×10^{10} 、 4.033×10^{10} 和 $4.787 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 均大于 $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, 由此可以得知球形纳米金和 BSA 的相互作用是静态猝灭过程。由 $\Delta G < 0$, $\Delta H < 0$ 和 $\Delta S < 0$, 可知两者之间的相互作用是自发进行的, 且主要作用力是氢键和范德华力。球形纳米金的存在影响了 BSA 分子的二级结构, 使其 α -螺旋结构含量由 56.9% 降低到 32.2%。**结论** 本研究获得了球形纳米金与 BSA 相互作用的热力学参数以及蛋白质二级结构含量的变化特征, 为金纳米材料在生物医学领域的应用提供基础理论依据。

关键词 球形纳米金; 牛血清白蛋白; 荧光光谱; 荧光猝灭; 热力学参数; 圆二色谱

中图分类号: TB383 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2021)10-305-06

The interaction of spherical gold nanoparticles with bovine serum albumin

LI Wenbo¹, SHI Hongchao¹, LIN Yinghao¹, LI Miao¹, LI Shu¹, LIU Xiaoyang¹, XU Jing^{2△}, XU Xiangyu^{1△}

(¹ College of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China;

² Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272029, China)

Abstract: Objective Study the interaction between spherical gold nanoparticles and bovine serum albumin (BSA) to obtain the corresponding thermodynamic parameters and quenching mechanism. **Methods** The interaction between spherical gold nanoparticles and BSA was studied by UV-visible absorption spectroscopy (UV-vis) and fluorescence spectroscopy (FL). The molecular structure of BSA was studied by circular dichroism (CD). **Results** With the concentration of the spherical gold nanoparticles solution increases, the absorbance intensity of the mixed solution increases. However, the fluorescence intensities obviously quenched and the fluorescence peak position is blue-shifted from 278 nm to 268 nm. The K_q values at the three temperatures (298K, 303K, 308K) are 3.513×10^{10} , 4.033×10^{10} and $4.787 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, respectively. The values are all greater than $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$, which shows that the interaction between spherical gold nanoparticles and BSA is a static quenching process. $\Delta G < 0$, $\Delta H < 0$ and $\Delta S < 0$ are obtained from the variable temperature fluorescence experiment indicating that the interaction is spontaneous, and the main force is hydrogen bonds and Van der Waals forces. The experimental results of circular dichroism (CD) show that the presence of spherical gold nanoparticles affects the secondary structure of BSA molecules, reducing the content of α -helical structure from 56.9% to 32.2%. **Conclusion** The thermodynamic parameters of the interaction between spherical gold nanoparticles and BSA and the changes in protein secondary structure content have been obtained in this study, which provides a basic theoretical foundation for the application of gold nanomaterials in the field of biomedicine.

* [基金项目] 济宁医学院国家自然科学基金培育基金项目 (JYP2018KJ17); 济宁医学院大学生创新训练计划项目 (cx2020100)

△ [通信作者] 徐静, E-mail: 873693629@qq.com; 徐香玉, E-mail: xuxiangyu1212@163.com

Keywords: Spherical gold nanoparticles; Bovine serum albumin; Fluorescence spectra; Fluorescence quenching; Thermodynamic parameters; Circular dichroism

因纳米材料具有较好的韧性^[1]和较低的熔点,故许多纳米粒子,包括金^[2]、银^[3-4]、铂^[5]都得到了广泛研究。在生命科学领域,基于纳米金良好的生物相容性使得纳米金可以作为体外成像的对比剂^[6-7],从而应用于体外成像。基于纳米金与蛋白质相互作用^[8],可以用于光热疗法^[9-10],从而达到体内治疗的目的。另外,纳米金可应用于癌症的诊断和治疗^[11-14]。

蛋白质是一切生命的物质基础,生物体内各种化学反应都离不开蛋白质的参与^[15]。牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)是牛肝细胞中合成的蛋白,其可与多种内源性和外源性物质结合^[16-17]。

本文以球形纳米金与 BSA 作为研究对象,运用光谱、色谱等技术研究两者的相互作用,为金纳米材料在生物医学等领域的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

二水合柠檬酸三钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 天津市博迪化工有限公司);氯金酸(HAuCl_4 , 国药集团化学试剂有限公司);抗坏血酸(北京百灵威科技有限公司);硼氢化钠(NaBH_4 , 纯度 98%, Alfa 公司);溴代十六烷基三甲胺铵(CTAB, $\text{C}_{19}\text{H}_{42}\text{NBr}$, 纯度 99%, 北京欣科中晶生物科技有限公司);BSA (纯度 99%, $M_w = 66.0\text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$, 北京欣科中晶生物科技有限公司);羟甲基氨基甲烷(Tris, Alfa 公司);BSA 溶液在 4℃ 冰箱中保存;试验中所用的水均为三次去离子水。

电子天平(EL 204, 梅特勒-托利多仪器有限公司, 上海),紫外分光光度计(岛津 UV-2501PC, 日本),荧光光度计(日立 F-4600, 带恒温样品支架, 型号为 250-0346, 日本),德国艾本德可调移液器,优普系列超纯水器(UPD-II-10T, 四川)。

1.2 方法

1.2.1 球形纳米金的制备 将 20mL 氯金酸($2.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)和柠檬酸三钠($2.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 在烧杯中混合。然后,边搅拌边加入 0.6mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaBH_4 溶液,此后混合溶液立刻变为粉红色,表明形成了金种子。在 2~5h 内此溶液

可用作种子溶液。在此实验中柠檬酸盐用作封端剂,得到的金种子直径为 3.5nm。

金纳米制备采用三步种子法。将 3 个试管分别标记 A、B、C,每个试管中都含有 9.0mL $2.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ HAuCl_4 和 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ CTAB 生长液。在每个试管中都加入 0.05mL $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的抗坏血酸溶液。然后,将 1.0mL 金种子溶液与样品 A 混合。A 溶液颜色在 2~3min 内变红。4~5h 后,从试管 A 中取出 1.0mL 溶液加入试管 B 中,然后混合均匀。溶液 B 在 4~5min 内呈红色。4~5h 后,从试管 B 中取出 1.0mL 溶液加入试管 C 中,然后混合均匀。溶液在 10min 内呈红色,所得溶液即为球形纳米金。

1.2.2 紫外光谱测定 利用紫外分光光度计,在 200nm 到 900nm 的扫描范围内,以 1200nm/min 的速度来测定溶液吸光度。固定比色皿中 BSA 的浓度为 $0.13 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,改变球形纳米金的浓度依次为:0、 0.83×10^{-5} 、 2.50×10^{-5} 、 4.17×10^{-5} 、 5.83×10^{-5} 、 7.50×10^{-5} 和 $9.17 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,测定两者相互作用的紫外光谱图。

1.2.3 荧光光谱测定 利用荧光分光光度计,激发波长为 280nm,相对应扫描波段为 300nm 到 500nm,发射和激发狭缝的宽度均设定为 5nm。固定比色皿中 BSA 溶液的浓度为 $0.13 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,球形纳米金的浓度同 1.2.2,测定两者相互作用的光谱图。

1.2.4 变温荧光光谱测定 变温荧光是测定球形纳米金与 BSA 结合能力大小的有效方法,本实验利用荧光分光光度计,测定了当激发波长为 280nm 时,球形纳米金与 BSA 在 298K、303K、308K 时的荧光强度,其中 BSA 的浓度为 $0.13 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,球形纳米金的浓度同 1.2.2,测定两者相互作用的光谱图。

1.2.5 圆二色谱测定 实验所用仪器为 J-810 圆二色谱仪(日本),此仪器带有程序控温系统控制的 Jasco 温控仪,光源系统用氮气保护(流量为 $5\text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$),扫描速率为 $100 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$,扫描波段为 220~320nm,扫描结果是此范围内的二次平均值,并且以千分度(mdeg)表示。

2 结果与讨论

2.1 球形纳米金与 BSA 相互作用的紫外光谱分析

金属粒子在紫外可见光区有吸收带或者吸收区,这是由于等离子共振激发或者带间跃迁形成的吸收^[18]。球形纳米金在 560nm 处有最大吸收峰(图 1)。空白 BSA 溶液的吸收峰在 280nm 左右,随着不同浓度球形纳米金溶液的加入,BSA 的紫外吸收强度随之有规律地递增,即随着球形纳米金浓度的增加,BSA 的溶液发生了增色效应,且其特征吸收峰由 278nm 蓝移到了 268nm,此结果表明,球形纳米金与 BSA 发生了相互作用。见图 2。

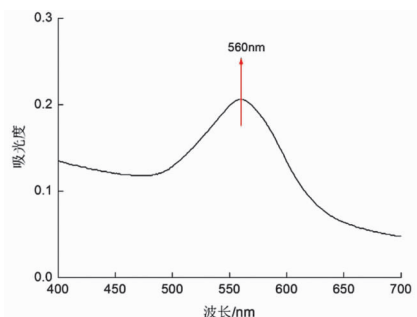
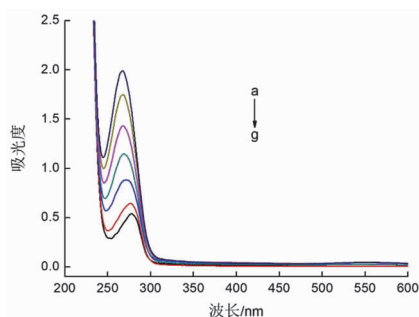


图 1 球形纳米金的紫外吸收光谱图



注:从(a)到(g)球形纳米金的浓度依次为 0.0、8.3、25.0、41.7、58.3、75.0、91.7 μM

图 2 球形纳米金与 BSA 相互作用的紫外可见吸收光谱图

2.2 荧光光谱分析

在 BSA 分子中,存在 3 个固有的荧光残基:色氨酸(Trp)、酪氨酸(Tyr)和苯丙氨酸(Phe),BSA 与其他物质相互作用而导致其荧光强度降低的现象称为荧光猝灭。随着溶液中球形纳米金浓度的增加,BSA 的荧光强度不断降低,荧光峰逐渐蓝移(向左移动了约 15nm),说明球形纳米金与 BSA 发生了相互作用,这种作用可能引起 BSA 中荧光发色团的微环境及蛋白质分子构象行为的变化(图 3)。结合紫外光谱图,可以得知球形纳米金不仅

与 BSA 发生相互作用,还使其结构发生了变化。

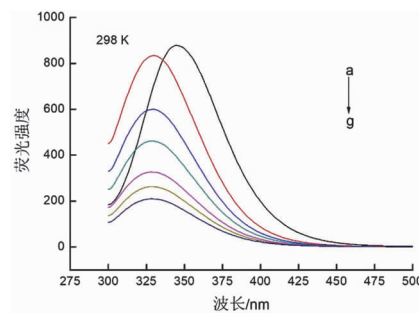


图 3 球形纳米金与 BSA 相互作用的荧光光谱图

2.3 荧光猝灭机制

为了更好地理解球形纳米金与 BSA 的相互作用机理,本实验开展了 298K、303K、308K 的变温荧光实验。荧光猝灭机理通常分为静态猝灭和动态猝灭,动态猝灭遵循 Stern-Volmer 方程^[19]:

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

其中: F_0 和 F 分别表示不存在和存在猝灭剂物质的荧光强度; $[Q]$ 为猝灭剂的浓度; K_{sv} 是动态猝灭常数; K_q 为猝灭速率常数; τ_0 为没有猝灭剂存在下荧光分子平均寿命,生物大分子荧光寿命约为 10^{-8} s。而静态猝灭过程遵循下式:

$$F_0/F = 1 + K_s[Q] \quad (2)$$

式中, K_s 是静态猝灭常数。随温度升高,动态猝灭常数会增大,而静态猝灭常数随之减小,可由此判断荧光猝灭类型。也可以通过比较 K_q 值来区分,如果 K_q 值大于生物大分子的最大扩散碰撞猝灭常数 ($2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$),则静态猝灭为主要作用机理,反之,则为动态猝灭。通过 F_0/F 作图(见图 4),可以确定 K_{sv} 的数值(见表 1),如表所示, K_{sv} 的值均随着温度上升而增大,但由于 K_q 均远大于 $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$,说明球形金纳米对 BSA 的荧光猝灭以静态猝灭为主。

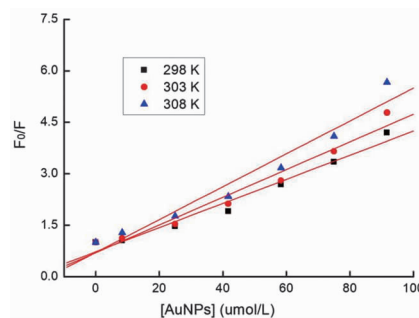


图 4 不同温度下球形纳米金对 BSA 猝灭的 Stern-Volmer 方程图

表 1 不同温度下球形纳米金与 BSA 相互作用的猝灭常数

T/K	$K_{sv}/\times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	$K_q/\times 10^{12} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
298	3.513	3.513
303	4.033	4.033
308	4.787	4.787

2.4 热力学参数及作用力分析

荧光猝灭是猝灭剂和荧光物质激发态分子的相互作用过程,为了更好地理解球形纳米金与 BSA 相互作用的机理,还分析了荧光强度与猝灭剂之间的关系。对于静态猝灭来说,可以用方程 Double-logarithm(公式 3)来探讨。

$$\log \frac{F_0 - F}{F} = \log K_a + n \log [Q] \quad (3)$$

式中 F 和 F_0 分别为有无球形纳米金存在时牛血清白蛋白溶液的荧光强度, $[Q]$ 为球形纳米金的浓度。以 $\log(F_0 - F)/F$ 对 $\log[Q]$ 作图,由图 5 的直线斜率和截距可求出球形纳米金与 BSA 分子的 Hill 常数 n 和平衡常数 K_a ,见表 2。由数据可知,随着温度的升高,结合常数和 n 均减小,也就是说随着温度的升高,BSA 与球形纳米金的结合能力降低。分子间的作用力包括氢键,范德华力,静电引力,疏水作用力等。当温度变化不大时,反应的焓变 ΔH 可认为是常数。由热力学公式(4,5)可以计算出不同温度下球形纳米金和 BSA 相互作用的热力学参数,见表 3。由 $\Delta G < 0$ 可知两者之间的相互作用是自发进行的。另外, $\Delta H < 0$ 和 $\Delta S < 0$, 根据 Ross 等^[20] 总结的热力学规律可推断出球形纳米金与 BSA 之间的主要作用力是氢键和范德华力。

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

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S = -RT \ln K \quad (5)$$

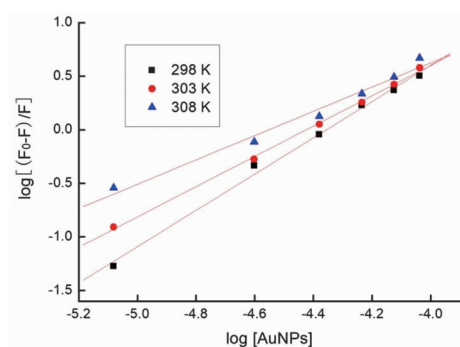


图 5 不同温度下球形纳米金对 BSA 猝灭的双倒数方程图

表 2 在不同温度下球形纳米金与 BSA 的结合常数和 Hill 常数

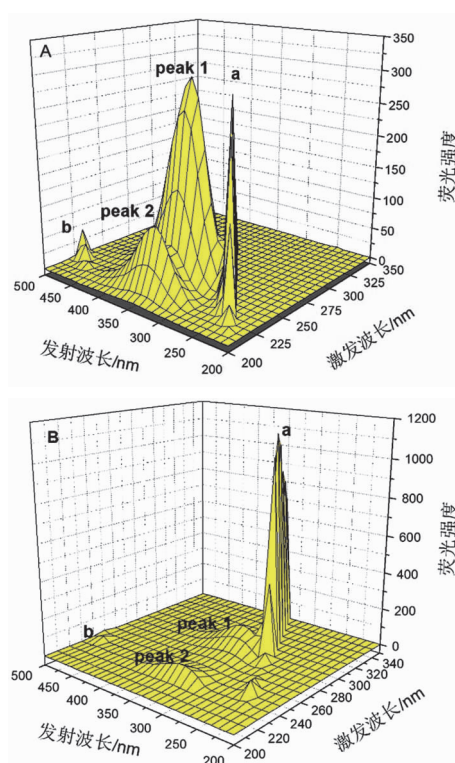
T/K	$K_a/\times 10^6 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$	n
298	23.66	1.69
303	1.814	1.41
308	0.1447	1.13

表 3 球形纳米金与 BSA 相互作用的热力学参数

T/K	$\Delta H/\text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	$\Delta G/\text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1}$	$\Delta S/\text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$
298		-42.07	
303	-388.9	-36.30	-1.163
308		-30.43	

2.5 3D 荧光光谱分析

球形纳米金与 BSA 相互作用后,峰位 a ($\lambda_{ex} = \lambda_{em}$) 为瑞利散射峰,其峰强度增加,峰位 b ($\lambda_{ex} = 2\lambda_{em}$) 为二阶散射峰,其峰强度降低。峰 1 ($\lambda_{ex} = 280.0 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 351.5 \text{ nm}$) 为色氨酸和酪氨酸残基的特征峰,其强度降低。峰 2 ($\lambda_{ex} = 225.0 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 351.5 \text{ nm}$) 为多肽骨架的特征峰,其强度也发生了降低。此实验结果表明,球形纳米金与 BSA 之间确实发生了相互作用,并且纳米材料的存在改变了蛋白质的肽链结构。见图 6。

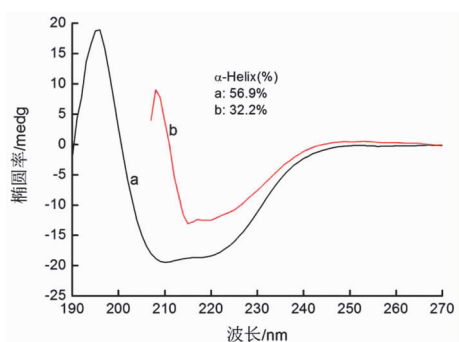


注:(A)空白 BSA,(B)球形纳米金与 BSA 相互作用体系

图 6 球形纳米金与 BSA 相互作用的 3D 荧光光谱图

2.6 圆二色(CD) 光谱分析

为了研究相互作用过程中 BSA 分子的结构变化,开展了圆二色谱实验(CD)。BSA 分子的圆二色谱在紫外区域的 208nm 和 220nm 处存在两个负的肩峰,这是典型的蛋白质 α -螺旋结构^[21]。两个肩峰强度都显著的减少,这说明蛋白质结构中 α -螺旋结构含量减少了。 α -螺旋结构含量的减少表明球形纳米金与蛋白质多肽链的氨基酸发生了相互作用。然而,在有无球形纳米金时,BSA 分子的圆二色光谱的形状较相近,这意味着当加入球形纳米金之后 BSA 分子的结构仍然是 α -螺旋结构占主导地位。见图 7。



注:从(a)到(b) BSA 的浓度固定为 $1.67 \times 10^{-6} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, 球形纳米金的浓度为 $0.833 \times 10^{-5} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$

图 7 球形纳米金与 BSA 相互作用的圆二色谱图

3 结论

本论文合成并表征了球形金纳米粒子,利用紫外可见光谱、荧光光谱以及圆二色谱相结合的方法研究了其与 BSA 的相互作用。由实验结果可知,随着球形纳米金浓度的增加,BSA 的紫外吸收峰强度有所增加,而荧光强度却降低。利用变温荧光实验得到了两者相互作用的吉布斯自由能变、焓变、熵变等热力学参数,得知荧光猝灭机理是静态猝灭。加入球形纳米金之后,BSA 分子结构仍然是 α -螺旋结构占主导地位。

利益冲突:所有作者均申明不存在利益冲突。

参考文献:

[1] Truong GT, Tran HV, Choi KK. Investigation on mode I fracture toughness of woven carbon fiber-reinforced polymer composites incorporating nanomaterials [J]. *Polymers*, 2020, 12 (11): 2512-2534. DOI: 10. 3390/polym12112512.

[2] Yang X, Yang MX, Pang B, et al. Gold nanomaterials at work in biomedicine [J]. *Chem Rev*, 2015, 115 (19):

10410-10488. DOI:10. 1021/acs. chemrev. 5b00193.

[3] 徐香玉,王浩,杜中玉,等.球形纳米银颗粒与人血清白蛋白相互作用的研究[J]. *化学通报*, 2016, 79 (3): 279-282. DOI: 10. 14159/j. cnki. 0441-3776. 2016. 03. 016.

[4] 刘雯,高硕,朱帅,等.银纳米线与 BSA 相互作用的光谱学研究[J]. *化学研究*, 2019, 30 (4): 372-377. DOI: 10. 14002/j. hxya. 2019. 04. 009.

[5] Dai K, Zheng L, Xu NY, et al. The preparation of c-reactive protein immunosensor based on amino graphene and hollow silver platinum nanomaterials [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2017, 17 (1): 115-122. DOI: 10. 1166/jnn. 2017. 12381.

[6] Fan L, Lou D, Zhang Y, et al. Rituximab-Au nanoprobe for simultaneous dark-field imaging and DAB staining of CD20 over-expressed on Raji cells [J]. *Analyst*, 2014, 139 (22): 5660-5663. DOI: 10. 1039/c4an01342e.

[7] Huang QQ, Zou Y, Zhong SC, et al. Silica-coated gold nanorods with high photothermal efficiency and biocompatibility as a contrast agent for in vitro terahertz imaging [J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2019, 15 (5): 910-920. DOI: 10. 1166/jbn. 2019. 2738.

[8] Garcia, J, Fernández-Pradas, M, Lladó A, et al. The combined use of gold nanoparticles and infrared radiation enables cytosolic protein delivery [J]. *Chem Eur J*, 2020, 27 (14): 4670-4675. DOI: 10. 1002/chem. 202005000.

[9] 汪静,高晓娟,赵启鹏.谷胱甘肽修饰金纳米棒用于肿瘤细胞光敏热疗的疗效及相关机制[J]. *生物物理学报*, 2015, 31 (2): 125-135. DOI: 10. 3724/SP. J. 1260. 2015. 50004.

[10] Sofla SFI, Abbasian M, Mirzaei M. A novel gold nanorods-based pH-sensitive thiol-ended triblock copolymer for chemo-photothermal therapy of cancer cells [J]. *J Biomat Sci-polym E*, 2019, 30 (1): 12-33. DOI: 10. 1080/09205063. 2018. 1504193.

[11] Mahmoud NN, Aqabani H, Hikmat S, et al. Colloidal stability and cytotoxicity of polydopamine-conjugated gold nanorods against prostate cancer cell lines [J]. *Molecules*, 2021, 26 (5): 1299-1319. DOI: 10. 3390/molecules26051299.

[12] 李林甲,金静,宋薇,等.碳点/金纳米复合材料的 SERS 及催化性质研究 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2020, 40 (S1): 145-146.

[13] Niloy MS, Shakil MS, Hossen MS, et al. Promise of gold nanomaterials as a lung cancer theranostic agent: a systematic review [J]. *Int Nano Lett*, 2021, 1-19. DOI: 10. 1007/s40089-021-00332-2.

(下转第 314 页)

- 45 (1): 37-51. DOI: 10. 19540/j. cnki. cjemmm. 20190929. 201.
- [2] 廖尚高,王珍,李靖,等. 南川斑鸠菊中的抗肿瘤倍半萜内酯[J]. 中国天然药物, 2012, 10(3): 230-233. DOI:10. 3724/SP. J. 1009. 2012. 00230.
- [3] 史茹茹,史资,陈新,等. 茄叶斑鸠菊中倍半萜类化学成分研究[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(2): 160-162. DOI:10. 13989/j. cnki. 0517-6611. 2018. 02. 046.
- [4] 彭彩曦,陈新,史茹茹. 斑鸠菊的化学成分研究[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(2): 160-162. DOI:10. 13989/j. cnki. 0517-6611. 2018. 05. 057.
- [5] 孙美利,李蕾,张舒媛,等. 斑鸠菊属药用植物化学成分研究[J]. 长春中医药大学学报, 2014, 30(3): 414-416. DOI:10. 13463/j. cnki. cczy. 2014. 03. 014.
- [6] Awe SO, Olajide OA, Makinde JM. Effects of *Allium sativum* and *Vernonia amygdalina* on thrombosis in mice [J]. *Phytoth Res*, 1998, 12(1): 57. DOI: 10. 1002/(SICI)1099-1573 (19980201)12:13. 3. 0. CO;2-M.
- [7] Abere H, Yadessa M. Antibacterial and antioxidant compounds from the flower extracts of *vernonia amygdalina* [J]. *Adv Pharmacol Sci*, 2018, 2018(4): 1-6. DOI: 10. 1155/2018/4083736.
- [8] 吴美芳,王杰,谷乐,等. 扁桃斑鸠菊抗炎抗氧化作用研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2019, 48(4): 366-372. DOI:10. 3969/j. issn. 1009-7791. 2019. 24. 012.
- [9] 孙力,巴玉兰,于鲁海,等. 斑鸠菊属植物药理活性研究进展[J]. 新疆中医药, 2009, 27(6): 82-85. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-3931. 2009. 08. 048.
- [10] 孙力,李红健,于鲁海,等. 驱虫斑鸠菊抗肿瘤化学成分的初步研究[J]. 中国现代中药, 2011, 13(12): 26-28. DOI:10. 13313/j. issn. 1673-4890. 2011. 12. 012.
- [11] 梁侨丽,闵知大. 咸虾花有效部位的化学成分研究[J]. 南京中医药大学学报, 2008, 24(3): 192-193. DOI:10. 3969/j. issn. 1000-5005. 2008. 03. 017.
- [12] 唐健民,朱成豪,许景堂,等. 响应面法优化扁桃斑鸠菊的黄酮提取及抗氧化活性研究[J]. 广西科学院学报, 2019, 35(1): 61-70. DOI: 10. 13657/j. cnki. gxkxyxb. 20190131. 003.
- [13] 王丹丹,陈俊,李俊丽,等. 优选牡丹皮中丹皮酚的提取工艺[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2013, 15(9): 1998-2001. DOI: 10. 11842/wst. 2013. 09. 025.
- [14] 王莹,韩丽,郭志辉,等. 正交试验法优选姜黄胶囊提取工艺[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2014, 16(5): 1188-1192. DOI: 10. 11842/wst. 2014. 05. 042.

(收稿日期 2021-04-09)

(本文编辑:石俊强)

(上接第 309 页)

- [14] Wang J, Zhang RY, Ji XT, et al. SERS and fluorescence detection of circulating tumor cells (CTCs) with specific capture-release mode based on multifunctional gold nanomaterials and dual-selective recognition [J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1141: 206-213. DOI: 10. 1016/j. aca. 2020. 10. 033.
- [15] Levak M, Burić P, Sikirić MD, et al. Effect of protein corona on silver nanoparticle stabilization and ion release kinetics in artificial sea water [J]. *Environ Sci Technol*, 2017, 51(3): 1259-1266. DOI: 10. 1021/acs. est. 6b03161.
- [16] Seedher N, Kanojia M. Fluorescence spectroscopic study for competitive binding of antidiabetic drugs and endogenous substances on serum albumin [J]. *Drug Metabol Drug Interact*, 2013, 28(2): 107-114. DOI: 10. 1515/dmdi-2012-0044.
- [17] Sandu N, Chilom C, David M, et al. Evaluation of the interaction of levothyroxine with bovine serum albumin using spectroscopic and molecular docking studies [J]. *J Biomol Struct Dyn*, 2020, 11-13. DOI: 10. 1080/07391102. 2020. 1822919.
- [18] Li X, Yang LQ, Wang YF, et al. Studies on binding of single-stranded DNA with reduced graphene oxide-silver nanocomposites [J]. *IET Nanobiotechnol*, 2020, 14(4): 308-313. DOI: 10. 1049/iet-nbt. 2019. 0377.
- [19] Xu X, Mao X, Wang Y, et al. Study on the interaction of graphene oxide-silver nanocomposites with bovine serum albumin and the formation of nanoparticle-protein corona [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 116: 492-501. DOI: 10. 1016/j. ijbiomac. 2018. 05. 043.
- [20] Ross PD, Subramanian S. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability [J]. *Biochemistry*, 1981, 20(11): 3096-3102. DOI: 10. 1021/bi00514a017.
- [21] Xu XY, Du ZY, Wu WH, et al. Synthesis of triangular silver nanoprisms and spectroscopic analysis on the interaction with bovine serum albumin [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2017, 409(12): 5327-5336. DOI: 10. 1007/s00216-017-0478-4.

(收稿日期 2021-05-26)

(本文编辑:石俊强)