

芦丁金属配合物的合成、表征及与血清白蛋白的相互作用

杨美玲 杨培菊 宋玉民*

(西北师范大学化学化工学院, 兰州 730070)

摘要: 本文合成了芦丁的过渡金属配合物, 通过红外及元素分析等方法对其进行了表征。采用荧光光谱和紫外光谱法研究了芦丁的过渡金属配合物与牛血清白蛋白(BSA)和人血清白蛋白(HSA)的相互作用。通过二者的荧光光谱的变化, 求得芦丁过渡金属配合物与血清白蛋白的结合常数。探讨了它们之间作用力的类型。

关键词: 芦丁过渡金属配合物; 牛血清白蛋白; 人血清白蛋白; 荧光光谱; 紫外光谱

中图分类号: O614.121; O614.81; O614.24*2 文献标识码: A 文章编号: 1001-4861(2005)04-0483-07

Synthesis, Characterization and Interaction of Transition Metal Complex of Rutin with BSA and HSA

YANG Mei-Ling YANG Pei-Ju SONG Yu-Min*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Northwest Normal University, Lanzhou 730070)

Abstract: A series of complexes of rutin (L) with transition metals were synthesized. On the basis of elemental analysis and IR spectra, the general formula of this complexes, $ML_2HCO_3Na \cdot nH_2O$ ($M=Cu, Cd, n=1$; $M=Co, n=6$; $M=Ni, n=3$), is given. The interaction of serum albumin (BSA and HSA) with this complexes was investigated by fluorescence and UV-Vis spectroscopy and the binding constants K (rutin-Cu-BSA: 3.4×10^7 , 5.8×10^5 ; rutin-Cu-HSA: 1.7×10^6 , 5.0×10^5) and the number of binding sites n (rutin-Cu-BSA: 1.6, 1.2; rutin-Cu-HSA: 1.2, 0.9) were obtained. The fluorescence quenching mechanism of rutin-Cu to BSA and HSA was also discussed.

Key words: metal complex; bovine serum albumin (BSA); human serum albumin (HSA); fluorescence spectroscopy; UV spectroscopy

血清白蛋白是血浆中含量最丰富的重要载体蛋白, 它能与许多内源性和外源性物质广泛结合。研究药物与血清白蛋白相互作用具有重要意义, 药物分子进入体内后, 总要通过血浆的贮存和运输, 到达受体部位发生药理作用。另外, 药物与白蛋白作用后, 使药物储留于血浆中, 以减弱药物的最大作用强度, 防止其大幅度波动以及延长药物的作用时间。因此, 研究药物与白蛋白的结合是药物动力学及临床药理学的重要内容, 已经成为引人注目的课题。

芦丁(rutin)是维生素 P 的主要组分之一, 它具有降低毛细血管通透性的功能, 能维持血管正常的渗

透压, 有助于保持恢复毛细血管的正常弹性; 对多种炎症也具有良好的疗效。芦丁属于黄酮类衍生物, 芦丁分子中同时含有 5-羟基黄酮与邻二羟基结构, 可与多种金属离子生成配位数不同的配合物。芦丁的某些过渡金属配合物的溶液吸收光谱^[1-5]已有报道, 但对芦丁金属配合物与生物分子的研究报道不多。考虑到过渡金属在医药方面的独特作用, 我们制备了几种芦丁过渡金属的配合物, 在芦丁溶液紫外吸收相对较强的 pH 范围(5.5~6)的条件下, 用紫外光谱和荧光光谱法研究了芦丁及其过渡金属配合物与牛血清白蛋白(BSA)和人血清白蛋白(HSA)之间的相

收稿日期: 2004-10-10。收修改稿日期: 2004-12-27。

甘肃省高分子材料重点实验室和西北师范大学 A 级学科资助项目。

*通讯联系人。E-mail: songym@nwnu.edu.cn

第一作者: 杨美玲, 女, 26 岁, 硕士研究生; 研究方向: 生物无机化学。

互作用,通过荧光猝灭法求得芦丁金属配合物与血清白蛋白的结合常数。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

牛血清白蛋白(BSA)为国药集团化学试剂有限公司产品。人血清白蛋白(HSA)为华兰生物工程股份有限公司产品。芦丁为 Sigma 公司产品。实验用水为去离子二次蒸馏水,其余试剂均为分析纯试剂。样品测定:RF-540 荧光分光光度计(日本岛津公司),U-3400 紫外分光光度计(日本日立公司),FTS-3000 型红外光谱仪(KBr 压片),DDS-型电导率仪(上海雷磁仪器厂),Perkin Elmer 2400CHN 型元素分析仪。

1.2 实验方法

1.2.1 配合物的制备

在装有搅拌器和冷凝管的 50 mL 三口瓶中,加入 0.5 mmol(约 310 mg)芦丁和 25 mL 无水乙醇。加热,搅拌,得黄色澄清溶液,向该溶液中加入 1.0 mmol(约 106 mg)无水碳酸钠继续搅拌 1 h,有黄色芦丁钠盐生成,然后加入 1.0 mmol(约 160 mg)无水醋酸铜回流搅拌 4 h,析出黄色沉淀物,抽滤,并用约 10 mL 热无水乙醇洗涤几次,抽滤,干燥,得芦丁

铜($(C_{27}H_{26}O_{16})Cu_2(HCO_3)_3Na \cdot H_2O$)。

同法制得芦丁镍($(C_{27}H_{26}O_{16})Ni_2(HCO_3)_3Na \cdot 3H_2O$),芦丁钴($(C_{27}H_{26}O_{16})Co_2(HCO_3)_3Na \cdot 6H_2O$),芦丁镉($(C_{27}H_{26}O_{16})Cd_2(HCO_3)_3Na \cdot H_2O$),且所有产品均为黄色。

1.2.2 紫外吸收光谱的测定

室温 28 °C 下,在 10 mL 的比色管中加入 0.3 mL 1.0 mmol·L⁻¹ 的 rutin-Cu 及一定量的 BSA (或 HSA),定容,扫描其紫外吸收光谱。同时再用同样的方法扫描 rutin 和 Cu²⁺与 BSA 和 HSA 的紫外吸收光谱。

1.2.3 荧光光谱的测定

室温 28 °C 下,移取 10 mL 10.0 μmol·L⁻¹ BSA (或 HSA)于 25 mL 比色管中,在 λ_{ex}=288 nm,λ_{em}=345 nm 处扫描 BSA 的荧光光谱及 BSA 分别在 rutin-Cu、rutin 和 Cu²⁺存在下的荧光光谱。

2 结果与讨论

2.1 配合物的表征

2.1.1 元素分析

C、H 含量用元素分析仪测得,过渡金属的含量用 EDTA 滴定法测得。其分析结果见表 1。

表 1 配合物的元素分析及其电导数据

Table 1 Elemental analysis and data conductance results of the complexes

Complexes	Found (calc.) / %			$\Lambda_m / (\mu S \cdot cm^{-1})$
	C	H	M	
$(C_{27}H_{26}O_{16})Cu_2(HCO_3)_3Na \cdot H_2O$	37.85(37.62)	3.82(3.34)	11.95(13.29)	66.3
$(C_{27}H_{26}O_{16})Ni_2(HCO_3)_3Na \cdot 3H_2O$	36.96(36.59)	4.32(3.56)	10.55(11.93)	58.4
$(C_{27}H_{26}O_{16})Co_2(HCO_3)_3Na \cdot 6H_2O$	34.41(34.68)	4.10(3.95)	10.55(11.34)	63.7
$(C_{27}H_{26}O_{16})Cd_2(HCO_3)_3Na \cdot H_2O$	34.63(34.73)	3.60(2.94)	18.95(21.3)	81.5

Data in parentheses are calculated values.

2.1.2 红外光谱分析

图 1 为配合物可能的结构式。用 KBr 压片法测得的 4 种配合物的红外特征吸收基本相似,表明配合物有类似的配位结构。配合物红外谱图与配体的谱图相比发生了较大变化,其主要红外吸收频率及

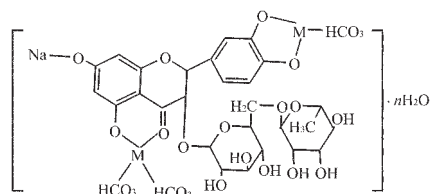


图 1 配合物的结构

Fig.1 Structure of complex

归属列于表 2。

由红外光谱数据可以看出,配合物显示了特有的羧基、酚羟基、醚氧基等特征频率,并且配合物与配体相比这些吸收峰均有较明显的变化^[5-12]。配体及配合物在 3400 cm⁻¹ 处出现的宽峰为配位水、醇和酚羟基的伸缩振动吸收峰。由于配体分子带有多个羟基,生成的配合物对此峰无影响。配体在 1655 cm⁻¹ 处出现羰基伸缩振动吸收峰,而配位作用使 C=O 键减弱,故相应吸收峰向低波数区位移。配合物中,此峰在低波数区与 1610 cm⁻¹ 处苯环体系吸收峰重叠,说明羰基参与了配位反应^[13]。配体在 1600 cm⁻¹、1500 cm⁻¹ 处出现的两个峰为苯环 π 键共轭体

表2 芦丁及其过渡金属配合物的主要红外吸收频率及归属

Table 2 Principal characteristic IR absorption frequency of rutin and their metal complexes

Assignment	Absorption frequency (ν / cm^{-1})	
	Rutin	Complexes
OH, H_2O stretching vibration	3 420s	3 420s
C=O stretching vibration	1 651vs	
Benzene ring skeleton C=C stretching vibration	1 600s, 1 500s	1 610m, 1 560s
C-O stretching vibration and OH in plane	1 360s, 1 290s	1 350s, 1 275s
Deformation coupling		
Vinyl ether C-O-C stretching vibration	1 200s, 1 065s, 1 010s	1 205s, 1 080
M-O stretching vibration		634m

vs: very strength; s: strength; m: middle strength.

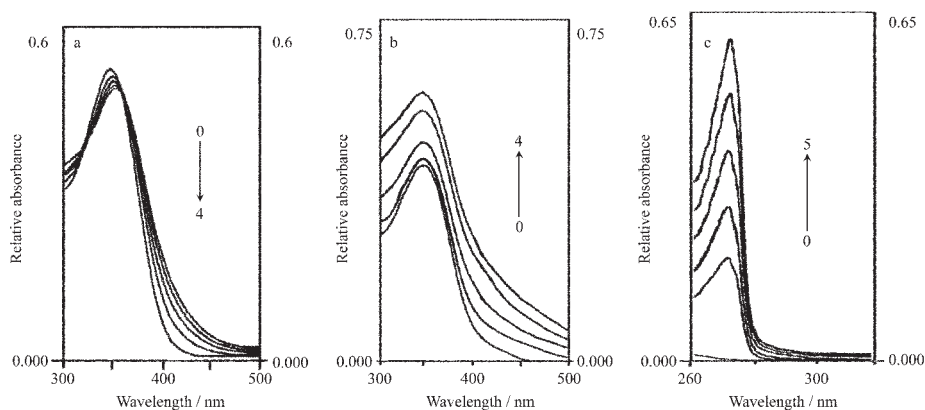
系的 C=C 键伸缩振动吸收峰,在配合物中这两个峰基本保留在原来位置,说明配位反应对苯环共轭体系影响不大。配体在 $1\,360\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,290\text{ cm}^{-1}$ 处的两个谱峰是酚羟基的 C-O 键伸缩振动与 O-H 键面内变形振动偶合所致,配合物中,这两个峰均向低波数方向位移,出现在 $1\,350\text{ cm}^{-1}$ 、 $1\,275\text{ cm}^{-1}$ 处,说明酚羟基参与了配位成键。配体在 $1\,200\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰是醚的 C-O-C 伸缩振动吸收峰,配合物中此峰仅向高波数区稍有位移,这排除了醚氧原子成键的可能。在 634 cm^{-1} 处观察到配合物有 M-O 键伸缩振动吸收峰,说明配体与金属离子相互作用生成了配合物。

2.2 紫外吸收光谱

图2和图3分别为有、无 BSA 和 HSA 时,芦丁、芦丁铜配合物和铜离子溶液的紫外吸收光谱。从

图中可以看出,相同条件下 rutin 和 rutin-Cu 及 Cu^{2+} 与 BSA 和 HSA 之间的作用明显不同。当向 $30.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 芦丁溶液中滴加白蛋白时,芦丁的特征吸收峰(350 nm)随着白蛋白浓度的增加,逐渐向长波方向移动(红移),且相对吸收强度有所减弱(图2a,图3a);而当向 $30.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 芦丁铜配合物溶液中滴加白蛋白时,芦丁铜配合物的特征吸收峰(345 nm)随着白蛋白浓度的增加,吸收峰位置没有发生变化,吸收强度有所增加(图2b,图3b);铜离子的存在对 BSA 和 HSA 的吸收光谱没有影响(图2c,图3c)。

同时,在用血清白蛋白滴定 rutin-Cu 的过程中,我们发现在浓度为 $4.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 到 $500.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内,完全符合郎伯-比尔定律,即 $A=\epsilon bc$ 。这表明 rutin-Cu 主要以单体形式存在于溶液中,在此体系

图2 BSA 对 rutin、rutin-Cu 和 Cu^{2+} 的紫外吸收光谱的影响Fig.2 Effect of BSA on the absorption spectra of rutin, rutin-Cu and Cu^{2+} solutions

$c_{\text{Cu}^{2+}}=10.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $c_{\text{rutin-Cu}}=30.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $c_{\text{BSA}}=30.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$:

a. rutin-BSA system: 0: rutin; 1: rutin+ $6.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA; 2: rutin+ $12.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA; 3: rutin+ $18.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA; 4: rutin+ $24.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA.

b. rutin-Cu-BSA system: 0: rutin-Cu; 1: rutin-Cu + $4.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA; 2: rutin-Cu + $6.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA; 3: rutin-Cu + $8.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA; 4: rutin-Cu + $10.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA.

c. Cu^{2+} -BSA system: 0: Cu^{2+} ; 1: Cu^{2+} + $1.5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA; 2: Cu^{2+} + $3.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA; 3: Cu^{2+} + $4.5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA; 4: Cu^{2+} + $6.0\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA; 5: Cu^{2+} + $7.5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA.

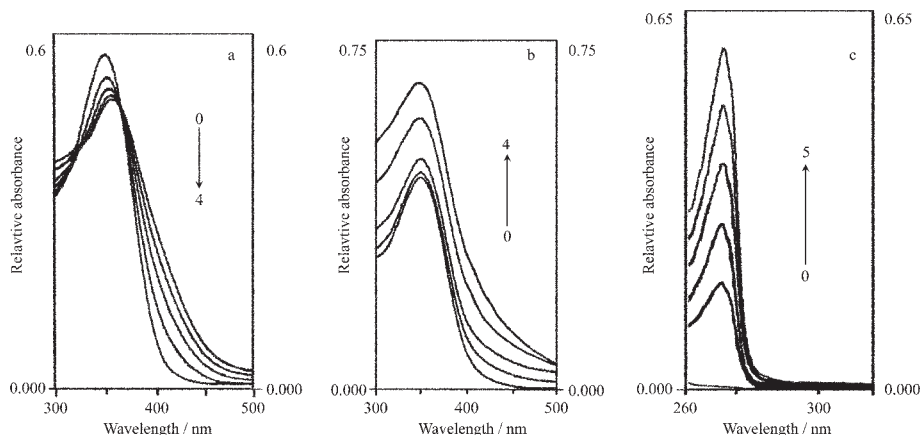


图 3 HSA 对 rutin、rutin-Cu 和 Cu^{2+} 的紫外吸收光谱的影响

Fig.3 Effect of HSA on the absorption spectra of rutin, rutin-Cu and Cu^{2+} solutions

$c_{\text{Cu}^{2+}}=10.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $c_{\text{rutin-Cu}}=30.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, $c_{\text{rutin}}=30.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

a. rutin-HSA system: 0: rutin; 1: rutin+ $6.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA; 2: rutin+ $12.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA; 3: rutin+ $18.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA; 4: rutin+ $24.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA.

b. rutin-Cu-HSA system: 0: rutin-Cu; 1: rutin-Cu+ $2.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA; 2: rutin-Cu+ $3.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA; 3: rutin-Cu+ $5.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA; 4: rutin-Cu+ $6.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA.

c. Cu^{2+} -HSA system: 0: Cu^{2+} ; 1: Cu^{2+} + $1.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA; 2: Cu^{2+} + $3.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA; 3: Cu^{2+} + $4.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA; 4: Cu^{2+} + $6 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA; 5: Cu^{2+} + $7.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HSA.

中滴加 BSA (或 HSA), rutin-Cu 的峰形不变, 说明 rutin-Cu 主要以单体形式与 BSA 和 HSA 结合。

另外, 我们测定了 $30.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ BSA 溶液的紫外吸收曲线及 rutin-Cu 与 BSA 等物质的量混合物溶液对 rutin-Cu 溶液的紫外示差谱, 结果发现混合

物的紫外吸收强度几乎比 BSA 的紫外吸收强度降低了一半(如图 4), 这表明 rutin-Cu 与 BSA 形成了配合物, 同样, rutin-Cu 与 HSA 也形成了配合物。

2.3 荧光猝灭效应及猝灭机理的研究

图 5 和图 6 分别为 rutin-Cu 对牛血清白蛋白和人血清白蛋白的荧光猝灭光谱图。固定血清白蛋白的量, 逐渐加入 rutin-Cu 溶液, 随着 rutin-Cu 浓度的增加, 血清白蛋白的荧光强度有规律的减弱, 且最大发射波长明显蓝移。血清白蛋白在 345 nm 附近的发射峰可归属于其色氨酸残基的发光, 而色氨酸残基的最大发射波长与其所处的微环境有关, 发射峰波长蓝移, 表明血清白蛋白的构象发生了变化, 从而使色氨酸残基周围的疏水性有所增加^[14]。rutin-Cu 对 BSA 的荧光猝灭在二者的表观物质的量比为 1:1.5 出现明显的拐点(图 5b), 表明 BSA 对 rutin-Cu 可能有两类结合部位^[15,16]。同样 rutin-Cu 对 HSA 的荧光猝灭在二者的表观物质的量比为 1:1 处出现明显的拐点(图 6b), 表明 HSA 对 rutin-Cu 也有两类结合部位。而且, 由于配合物的存在使血清白蛋白的荧光强度降低, 表明二者之间存在相互作用, 发生了能量转移。而血清白蛋白的存在并不能使无荧光的 rutin-Cu 产生荧光, 表明二者间的能量转移过程属于非辐射能量转移过程。

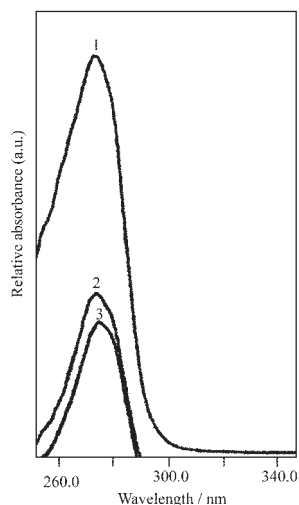


图 4 rutin-Cu 的紫外示差吸收光谱

Fig.4 Differential absorption spectra of rutin-Cu

$c_{\text{BSA}}=30.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $c_{\text{rutin-Cu}}=30.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $c_{\text{rutin}}=3.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; $c_{\text{Cu}^{2+}}=10.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.

1: BSA; 2: rutin-Cu+BSA ($c_{\text{rutin-Cu}}:c_{\text{BSA}}=1:1$, reference solution is rutin-Cu); 3: rutin + BSA ($c_{\text{rutin}}:c_{\text{BSA}}=1:1$, reference solution is rutin)

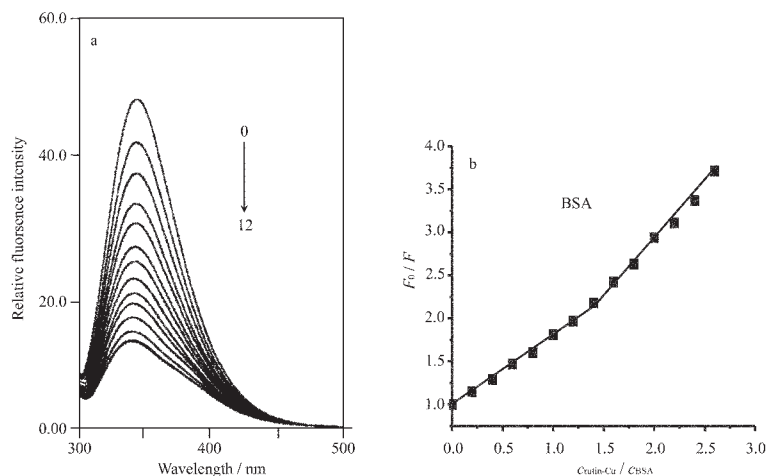


图5 BSA溶液荧光光谱

Fig.5 Emission spectra of BSA

- a. The emission spectra of BSA in the presence and absence of rutin-Cu, $\lambda_{\text{ex}}=288 \text{ nm}$, $c_{\text{BSA}}=10.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; from 0 to 12 curves: $c_{\text{rutin-Cu}} (\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})=0; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0; 10.0; 12.0; 14.0; 16.0; 18.0; 20.0; 22.0; 24.0$, respectively.
- b. Plot of F_0/F versus $c_{\text{rutin-Cu}} / c_{\text{BSA}}$

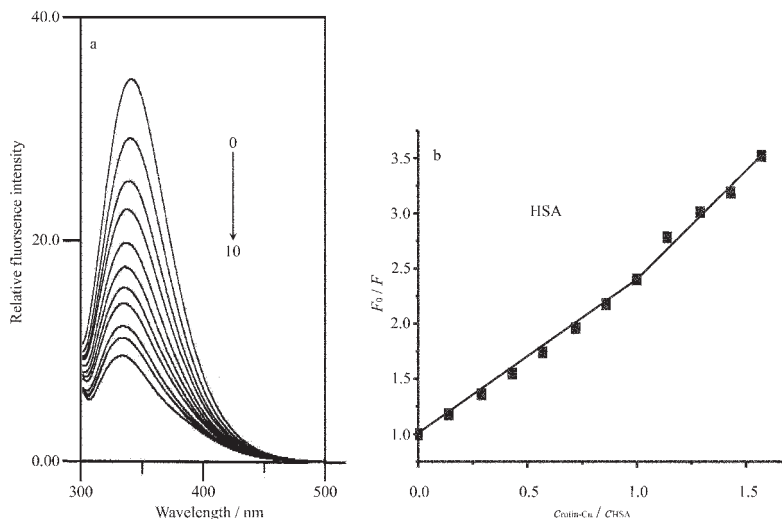


图6 HSA溶液荧光光谱

Fig.6 Emission spectra of HSA

- a. The emission spectra of HSA in the presence and absence of rutin-Cu, $\lambda_{\text{ex}}=288 \text{ nm}$, $c_{\text{HSA}}=14.0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; from 0 to 10 curves: $c_{\text{rutin-Cu}} (\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1})=0; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0; 10.0; 12.0; 14.0; 16.0; 18.0; 20.0$, respectively.
- b. Plot of F_0/F versus $c_{\text{rutin-Cu}} / c_{\text{HSA}}$

荧光猝灭过程通常可以分为动态猝灭作用和静态猝灭作用两类。动态猝灭是猝灭剂和荧光物质的激发态分子之间的相互作用过程。其作用过程遵循 Stern-Volmer 方程:

$$F_0/F=1+K_q\tau_0c_Q=1+K_{\text{SV}}c_Q \quad (1)$$

其中 F_0 为未加猝灭剂时的荧光强度; F 为加入猝灭剂后的荧光强度; K_q 为双分子猝灭过程的速率常数; τ_0 为没有猝灭剂存在时荧光分子的平均寿命,

c_Q 为猝灭剂的浓度; K_{SV} 称为 Stern-Volmer 猝灭常数, 是双分子猝灭速率常数与单分子衰变速率常数的比率。

静态猝灭是猝灭剂和荧光物质分子在基态时生成不发光的配合物, 从而导致荧光物质荧光强度降低的过程, 此过程可用下式描述:

$$F_0/F=1+Kc_Q \quad (2)$$

式中 K 是基态配合物的形成常数。

比较式(1)和式(2)可以看到,无论是静态猝灭还是动态猝灭, F_0/F 与 c_Q 之间存在着线性关系,因而,仅仅通过测量荧光强度所得到的荧光猝灭数据,无法判断猝灭现象是属于动态还是静态的。区分动态猝灭与静态猝灭可以通过以下几个方面来确定:

(1) 动态猝灭与温度有关,温度升高将增大扩散系数,从而增大双分子猝灭常数;而温度升高可能引起配合物的稳定性的下降,从而减小静态猝灭的程度。

(2) 由于动态猝灭只影响到荧光物质的激发态,因而并不改变荧光物质的吸收光谱;静态猝灭中,基态配合物的生成往往会导致荧光物质吸收光谱的改变。

(3) 静态猝灭过程中,猝灭剂的存在并不改变荧光分子激发态的寿命, $\tau_0/\tau=1$;而动态猝灭,

猝灭剂的存在使荧光寿命缩短, $\tau_0/\tau=F_0/F$ 。这是区分动态猝灭与静态猝灭最确切的方法。

若 K_{sv} 为动态猝灭常数,由于生物大分子的荧光寿命 τ_0 约为 10^{-8} s^[17],故由式(1)可求得猝灭速率常数为 6.0×10^{12} L·mol⁻¹·s⁻¹,而各类猝灭剂对生物大分子的 K_q 最大值^[17]为 2.0×10^{10} L·mol⁻¹·s⁻¹,即 rutin-Cu 对 BSA 荧光猝灭过程的速率常数远远大于扩散控制的 K_q ,所以以上猝灭过程为静态猝灭。

2.4 用静态猝灭法分析 rutin-Cu 与 BSA 的相互结合

在静态猝灭作用中,荧光强度与猝灭剂的关系可由荧光-猝灭分子间的结合常数表达式推导出。设生物大分子有 n 个相同且独立的结合位置,则有:



式中 P 为荧光生物大分子, Q 为猝灭剂分子, Q_nP 为生成物,其生成常数 K 为:

$$K = \frac{c_{Q_nP}}{c_Q c_P}$$

若荧光体总浓度 c_{P_0} ,且 $c_{P_0} = c_{Q_nP} + c_P$, c_P 为游离荧光体浓度,则有:

$$c_{Q_nP} = c_{P_0} - c_P$$

在静态猝灭中,荧光体的荧光强度与其游离浓度呈

正比 $\frac{c_P}{c_{P_0}} = \frac{F}{F_0}$,则有:

$$\lg \frac{F_0 - F}{F} = \lg K + n \lg c_Q \quad (4)$$

由式(4)作图,通过斜率和截距可求出 rutin-Cu 与

BSA 和 HSA 分子的结合常数 K 及结合点数 n 。为了准确得到 rutin-Cu 与 BSA 和 HSA 的结合常数,选择 288 nm 为激发波长,以避免酪氨酸残基发射的影响。实验表明随着 rutin-Cu 浓度的增加,BSA 和 HSA 中色氨酸荧光发射光谱强度降低。将实验数据用式(4)进行处理,得到图 7a 和 7b,由所得直线算出 rutin-Cu 与 BSA 和 HSA 的结合点数 n ,再应用平衡法和外推直线的截距,求出相应的结合常数 K 。

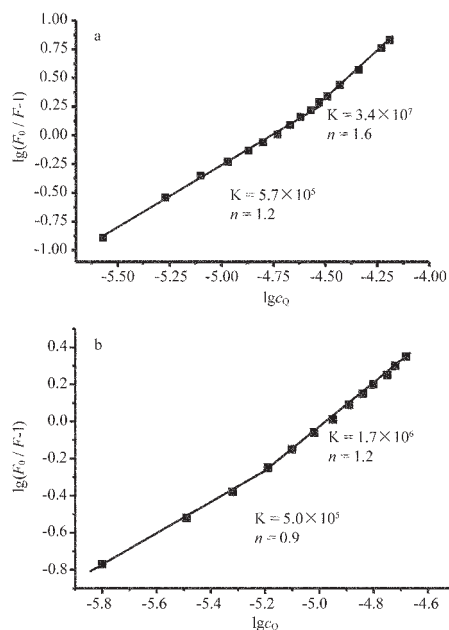


图 7 $\lg(F_0/F-1)$ 与 $\lg c_Q$ 的关系图

Fig.7 Plot of $\lg(F_0/F-1)$ versus $\lg c_Q$

a. Rutin-Cu-BSA system;

b. Rutin-Cu-HSA system

参考文献:

- [1] Jurd L, Geissman T A. *J. Org. Chem.*, **1956**, **21**:1395~1401
- [2] Porter L J. *J. Chem. Soc.*, **1970**(c):1309~1313
- [3] KANG Yu-Zhuan(康玉专), SHEN He-Bai(沈鹤柏), LUO Yan-Qing(罗衍庆), et al. *Xitu(Chinese Rare Earths)*, **2002**, **23**(5):22~24
- [4] Igor B A, Elena A O, Elena V M, et al. *Biochemical Pharmacology*, **2001**, **61**:677~684
- [5] Rubens F V, Wagner F G. *Spectrochimica Acta Part A*, **2004**, **5**:1~6
- [6] XIA Yu-Ming(夏玉明), PU Hui-Shan(朴惠善), LUO Hui-Shan(罗惠善). *Yanbian Daxue Xuebao(Ziran Kexue Ban)(Journal of Yanbian University(Natural Science))*, **2000**, **26**(1):72~74
- [7] XIA Yu-Ming(夏玉明), PU Hui-Shan(朴惠善), XU Yan-Ji

- (许妍姬). *Yanbian Daxue Xuebao(Ziran Kexue Ban)(Journal of Yanbian University(Natural Science))*, **1999**,**25**(1):37~39
- [8] ZHOU Jing(周 晶), WANG Jin-Yi(王进义), TANG Ning(唐宁). *Lanzhou Daxue Xuebao(Journal of Lanzhou University (Natural Sciences))*, **2001**,**37**(1):123~125
- [9] LIU Wei-Chun(刘伟春), LIU Gang(刘 钢). *Ningxia Gongcheng Jishu(Ningxia Engineer Technology)*, **2002**,**1**(3):224~226
- [10] WU Yi-Qun(吴谊群), ZHANG Bin(张 斌), ZHU Qing-Tao(朱清桃), et al. *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao(Chemical Journal of Chinese Universities)*, **1998**,**19**(3):410~413
- [11] HAO Wen-Hui(郝文辉), WANG Ping(王 萍), YAN Li-Mei(闫丽梅), et al. *Heilongjiang Daxue Ziran Kexue Xuebao (Journal of Natural Science of Heilongjiang University)*, **1998**, **15**(4):105~107
- [12] CENG Yi-Bo(曾毅博), ZHOU Jin(周 晶), ZHANG Ling(张玲), et al. *Zhongguo Xitu Xuebao(Journal of The Chinese Rare Earth Society)*, **2002**,**20**:24~25
- [13] Katsuma H. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **1978**, **51**(18):2425~2426
- [14] ZHANG Xiao-Wei(张晓威), ZHAO Feng-Lin(赵凤林), LI Ke-An(李克安). *Gaodeng Xuexiao Huaxue Xuebao(Chemical Journal of Chinese Universities)*, **1999**,**20**(7):1063~1067
- [15] YANG Bin-Sheng(杨斌盛), YANG Pin(杨 频). *Shengwu Huaxue Yu Shengwu Wuli Jinzhan(Prog. Biochem. Biophys.)*, **1992**,**19**(2):110~113
- [16] WANG Xing-Ming(王兴明), DONG Fa-Qin(董发勤), DING Li-Sheng(丁立生), et al. *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese Journal of Inorganic Chemistry)*, **2004**,**20**(8):920~293
- [17] Yang M M, Yang P, Zhang L W. *Chinese Science Bulletin*, **1994**,**39**(9):731~735