荧光增白剂与人血清白蛋白相互作用的多种光谱法及 分子对接技术研究

曾永芳1,谢江宁1,李凤标1,周柳金1,李莜1,吴胜2,覃昆飞*1

(1.贵港市疾病预防控制中心,广西贵港 537100;2.贵港市公共检验检测中心,广西贵港 537100)

摘要:通过多种光谱方法与分子对接技术,从分子水平上对两种荧光增白剂(C.I.135、C.I.185)与人血清白蛋白(HSA)的 相互作用机制进行研究。稳态荧光光谱及紫外-可见光谱实验结果表明,C.I.135、C.I.185 与 HSA 均形成了基态复合物 (HSA-C.I.135、HSA-C.I.185),猝灭机理为静态猝灭机理,热力学参数表明氢键与范德华力是结合作用的主要作用力,并 且结合过程都是自发进行。三维荧光光谱结果表明 C.I.135、C.I.185 可以改变 HSA 的氨基酸残基微环境和构象,C.I. 185 对 HSA 产生的影响是最大的。分子模拟实验进一步验证上述实验结果。

关键词:荧光增白剂;人血清白蛋白;多种光谱;分子模拟技术;相互作用 中图分类号:0657 文献标识码:A 文章编号:0258-3283(2024)08-0034-08

DOI:10.13822/j.cnki.hxsj.2024.0182

Study on Interactions between Fluorescent Brightener and Human Serum Albumin: Multi-spectroscopic and Molecular Docking Simulation ZENG Yong-fang¹, XIE Jiang-ning¹, LI Feng-biao¹, ZHOU Liu-jin¹, LI You¹, WU Sheng, QIN Kun-fei^{*1} (1.Guigang Municipal Center for Disease Control and Prevention, Guigang 537100, China; 2.Guigang City Public Inspection and Testing Center, Guigang 537100, China)

Abstract: Through multi-spectroscopic methods and molecular docking simulation, the study of the interaction mechanism of the two fluorescent brightener (C. I.135, C. I.185) and human serum albumin(HSA) was conducted at the molecular level. Steady-state fluorescence spectroscopy and UV-visible spectral experimental results showed that two ground state complexes (HSA-C. I. 135 and HSA-C. I.185) were formed by C. I.135 and C. I.185 bonded with HSA, and the results also showed that quenching mechanism was a static quenching mechanism, the thermodynamic data show that Van der Waals interactions and hydrogen bonds formation were main interaction forces, and both of the binding were spontaneous. Three-dimensional fluorescence spectrum showed that C. I.135 and C. I.185 could change the microenvironment and conformation of the amino-acid residue of HSA, and C. I.185 had the greatest impact on HSA. The molecular docking simulation further verified the above experimental results.

Key words: fluorescent brightener; human serum albumin; multi-spectroscopic; molecular docking; simulation; interaction

荧光增白剂是一种荧光染料,具有亮白、增艳 等作用,已广泛应用于人们的日常生活中。在我 国,荧光增白剂被定义为精细化工产品,不属于食 品添加剂,并且严禁非法添加到食品中。在国家 食品安全整顿办函[2010]50号文件^[1]中已经公 布荧光增白剂被列入第四批"食品中可能违法添 加的非食用物质和易滥用的食品添加剂"黑名单 中。大多数荧光增白剂的结构式中含有苯环、萘、 多环芳烃等结构,有引起体外细胞遗传物质损伤 及潜在致癌的可能^[2]。根据相关报道,荧光增白 剂在进入人体与蛋白质进行结合后,正常的代谢 途径很难将其排出体外,并且荧光增白剂对生物 体伤口愈合能力产生影响,阻止伤口愈合以及降 低免疫力,对致癌肿瘤的形成有促进作用^[3]。

小分子物质经各种途径进入人体,与人体内 的运输载体结合后运送到到人体各部位。血液中 的血清白蛋白是血液中含量最丰富的蛋白质之 一,能够与进入血液中的各类小分子物质进行结 合,并将其运输到人体各部位。研究荧光增白剂 与血清白蛋白的相互作用,能够更好地了解荧光 增白剂与血清白蛋白结合后,在生物体内的运输、 分配、代谢、毒害性等方面的性质,对荧光增白剂 的毒理学及其安全风险评估具有重要的指导意 义,对低毒性或无毒的荧光增白剂的发展及应用 提供理论依据。目前关于荧光增白剂的研究主要

收稿日期:2024-3-21;网络首发日期:2024-06-11

基金项目:广西壮族自治区卫生健康委员会自筹经费科研 课题项目(Z-R20221955)。

作者简介:曾永芳(1984-),女,壮族,广西柳州人,硕士,副 主任技师,主要研究方向为光谱分析。

通讯作者:覃昆飞,E-mail:269854733@gg.com。

引用本文:曾永芳,谢江宁,李风标,等.荧光增白剂与人血 清白蛋白相互作用的多种光谱法及分子对接技术研究[J]. 化学试剂,2024,46(8):34-41。 集中在检测方面^[4,5],而荧光增白剂与血清白蛋白的相互作用研究较少。潘可亮等^[6]利用荧光光谱法研究牛血清白蛋白(BSA)与荧光增白剂(VBL、CBS-X、BBU)的相互作用机制,但其研究方法比较单一,且使用的模型蛋白是BSA,并不能更好地了解荧光增白剂在人体内的作用机理、构效关系等情况。因此,运用多种研究手段从分子水平上深入了解荧光增白剂进入人体后所引发的生化反应机制,对荧光增白剂在日常生活中的安全应用至关重要。

人血清白蛋白(Human Serum Albumin, HSA) 是人体内血浆中含量最丰富的蛋白质,具有特殊 位点,能够与金属离子、药物分子和染料等进行特 异性结合,是运输内源性及外源性物质的重要载 体^[7],是研究蛋白质折叠和配体结合过程中最理 想的模型蛋白并且应用最广泛^[79]。HSA 的氨基 酸序列的测定已基本完成^[7],苯丙氨酸残基 (Phe)、酪氨酸残基(Tyr)以及色氨酸残基(Trp) 是 HSA 主要的荧光发色基团,其荧光强度之比 *FI*(Trp):*FI*(Tyr):*FI*(Phe)=100:9:0.5。因此, 研究者们一般默认色氨酸残基(Trp)是 HSA 主要 的荧光发色基团^[10,11]。

通过多种光谱实验及分子模拟对接技术从相 互作用的亲和力、反应过程及其主要作用力以及 对 HSA 氨基酸残基微环境及其构象影响方面研 究荧光增白剂(C. I.135、C. I.185,图1)与 HSA 的 相互作用,建立荧光增白剂与 HSA 进行相互作用 的体外模型,能够更好地了解荧光增白剂在人体 内的运输、分配、代谢、毒害性和分子设计具有重 要意义,而且对有关部门划分食品非法添加物具 有重要的指导意义。



a.C. I.135;b.C. I.185 图 1 C. I.135、C. I.185 分子结构式 Fig.1 Molecular structures of C. I.135 and C. I.185

1 实验部分

1.1 主要仪器与试剂

LS-55 型荧光光谱仪(美国 Perkin Elmer 公司);THS-22Q 型超级恒温水槽(宁波天恒仪器 厂);TU-1810DAPC 型紫外-可见分光光谱仪(北 京普析通用有限公司);DZS-706 型多参数分析仪 (上海仪电科学仪器股份有限公司);Millipore-Q 超纯水净化仪(美国 Millipore 公司)。

荧光增白剂 C. I.135(纯度 99.1%,美国斯坦 福化学公司);荧光增白剂 C. I.185(纯度 99.8%, 坛墨质检科技股份有限公司);HSA(纯度 97%, 美国 Sigma-Aldrich 公司);NaCl、KCl、Na₂HPO₄、 KH₂PO₄(分析纯,天津光复科技有限公司);乙醇 (分析纯,国药集团化学试剂有限公司);超纯水 作为实验用水。

1.2 实验方法

1.2.1 溶液的配制

用 NaCl、KCl、Na₂HPO₄、KH₂PO₄ 配制 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS),并调节至 pH 7.4,用 PBS 缓冲液将 HSA 配制成 2.0×10⁻⁶ mol/L 的使用液。C. I.135、C. I.185 均用乙醇配制。

1.2.2 稳态荧光光谱实验

将激发波长设置为 295 nm,调节适当的激发 狭缝和发射狭缝的宽度。在 300~450 nm 波长范 围内,测定 298、304、310 K下,HSA 在不同浓度的 C. I.135 与 C. I.185 的荧光光谱,C. I.135、C. I.185 浓度均从 0 mol/L 增加到 2. 0×10⁻⁶ mol/L,每次增 加 2. 0×10⁻⁷ mol/L。

1.2.3 紫外-可见吸收光谱实验

将 HSA 和两个荧光增白剂配制成浓度为 2.0×10⁻⁶ mol/L 溶液。设置扫描波长范围为 200~350 nm,分别测量 HSA 的紫外-可见吸收光 谱和两个 HSA-荧光增白剂与相应的荧光增白剂 的吸收光差谱。测量用的比色皿是径长为 1.0 cm 的石英比色皿。

1.2.4 三维荧光实验

将 HSA 和两个荧光增白剂配制成浓度为 1.0×10⁻⁶ mol/L 溶液,设置激发波长范围为 200~ 350 nm,设置发射波长范围为 200~500 nm,扫描 波长每次增加 5 nm。

1.2.5 分子模拟对接实验

HSA 的晶体结构来源于 RCSB 蛋白数据库 (PDB ID:1h9z)。用分子对接软件(Sybyl 8.1)对 HSA 晶体进行去除水分子、加入氢原子及电荷等 前处理后,与荧光增白剂分子模型进行模拟结合, 根据实验数据分析荧光增白剂与 HSA 的结合模 式、结合部位、作用力类型以及荧光增白剂对 HSA 构象及氨基酸残基微环境的影响等。

2 结果与讨论

2.1 荧光增白剂对 HSA 荧光光谱的影响 如图 2 所示,在波长 350 nm 处,HSA 表现出

较强的荧光, 而 C. I. 135 与 C. I. 185 几乎没有荧 光;当加入 C. I. 135 与 C. I. 185 后, HSA 的荧光强 度降低, 说明 C. I. 135 与 C. I. 185 都可以有效地猝 灭 HSA 的内源性荧光; 当不断加入 C. I. 135 与 C. I. 185, HSA 荧光峰的荧光强度逐渐降低, 说明 C. I. 135 与 C. I. 185 是以浓度依赖形式猝灭 HSA 的内源性荧光。此外, 从图 2 中可以看出, 随着 C. I. 135 与 C. I. 185 的加入, HSA 的发射峰位置有 蓝移现象, 且荧光光谱的形状发生变化, 说明在 C. I. 135、C. I. 185 与 HSA 相互作用的过程中, C. I. 135、C. I. 185 可以改变 HSA 的氨基酸残基的极性 环境^[12]。



1~11; C. I.135 与 C. I.185 浓度为 0, 0. 2, 0. 4, 0. 6, 0. 8, 1. 0, 1. 2, 1. 4, 1. 6, 1. 8, 2. 0(×10⁻⁶ mol/L) a.C. I.135; b.C. I.185
图 2 C. I.135, C. I.185 对 HSA 内源性荧光的影响
Fig.2 Effects of C. I.135 and C. I.185 on HSA endogenous fluorescence

从图 2 中的插图可看出,当 C. I.135 与 C. I. 185 浓度低时,HSA-C. I.135 与 HSA-C. I.185 的荧 光猝灭方程有着良好的线性关系。由于 C. I.135、 C. I.185 与 HSA 的结合作用,导致这两个荧光增 白剂与 HSA 发生光诱导电子转移^[13]。HSA 与 C. I.135、C. I.185 之间的光诱导电子转移阻止了 Trp 残基中电子和分子轨道的正常重组,电子通过 非辐射跃迁回到基态,从而导致 HSA 荧光猝灭^[13]。

2.2 荧光增白剂与 HSA 相互作用的猝灭机理

荧光猝灭机理主要包括静态猝灭和动态猝 灭^[14-16],可以通过荧光猝灭常数(K_{sv})在不同温 度下的变化情况来区分。动态猝灭的 K_{sv}通常随 反应温度的升高而增大,造成这一现象是因为荧 光猝灭剂与荧光基团在激发态相互碰撞产生的, 温度越高,两者的碰撞越激烈,而静态猝灭则随反 应温度的升高而减小,这是因为静态猝灭是由荧 光基团与荧光猝灭剂相互作用而结合成稳定的基 态复合物,温度越高,基态复合物则会被分解^[17]。 为了研究 C. I.135、C. I.185 与 HSA 相互作用的荧 光猝灭机理,分别在 3 个不同的温度(298、304、 310 K)进行实验,并用 Stern-Volmer 方程(方程 式1)对数据分析处理^[17],计算的 K_{sv}值均列于 表1中:

$$F_0/F = 1 + K_{\rm SV}[Q]$$
 (1)

式中, *F*₀ 为未加入荧光增白剂浓度时 HSA 的荧光强度^[17], *F* 为加入相应浓度的荧光增白剂时 HSA 的荧光强度^[17], *K*_{sv} 为 猝灭常数^[17], *Q*]为荧光增白剂的浓度^[17]。



a.C. I.135; b.C. I.185

图 3 3个温度下 C. I.135、C. I.185 与 HSA 的 Stern-Volmer 关系图

Fig.3 Stern-Volmer plots of C. I.135 and C. I.185 on HSA at three different temperatures

表1 3个温度下 C. I.135、C. I.185 与 HSA 相互作用的 K_{sv}

Tab.1 $K_{\rm SV}$ for the interaction between C. I.135 andC. I.185 on HSA at three different temperatures

作用类型	<i>T/</i> K	$K_{\rm SV}/(10^5 {\rm L} \cdot {\rm mol}^{-1})$	R^2	S.D.
	298	3.39	0. 997	0.021
HSA-C. I.135	304	2.23	0.998	0.009
	310	1.74	0. 999	0.005
	298	3. 52	0. 996	0.024
HSA-C. I.185	304	3.11	0.999	0.001
	310	2.79	0.998	0.003

表1数据表明,随着温度升高,两个相互作用 体系的 K_{sv}值均下降,表明了这两个相互作用体 系的猝灭机理均为静态猝灭,因此可以使用修正 的 Stern-Volmer^[18]方程(方程式2)进一步分析荧 光光谱数据。

 $F_0/(F_0 - F) = 1/(f_a K_a[Q]) + 1/f$ (2)

 式中, K_a 为荧光增白剂与 HSA 相互作用的结合常数^[18],

 [Q]为荧光增白剂的浓度^[18], f_a 为 HSA 荧光分子与荧光猝灭剂

 接近的部分^[18]。







如图 4 所示, HSA-C. I. 135 与 HSA-C. I. 185 相互作用体系修正后的 Stern-Volmer 方程图的线 性关系良好。从表 2 中看出, HSA-C. I. 135 与 HSA-C. I.185 相互作用体系的结合常数(*K*_a)值均 随着温度的升高而下降, 说明 C. I.135、C. I.185 与 HSA 的结合能力因温度升高而变弱, 表明 HSA-C. I.135 与 HSA-C. I.185 的荧光猝灭机理为静态

表 2 3 个温度下 C. I.135、C. I.185 与 HSA

相互作用的 K_a

Tab.2	$K_{\rm a}$ fo	or the	interactio	on betwee	en C. I.1	35 and
C. I.1	85 on	HSA	at three	different	tempera	tures

作用类型	<i>T/</i> K	$K_{\rm a}/(10^5 { m L} \cdot { m mol}^{-1})$	R^2	S.D.
	298	6.38	0. 999	0.096
HSA-C. I.135	304	5.30	0.997	0.339
	310	3.90	0.998	0.416
	298	7.88	0.999	0.098
HSA-C. I.185	304	6.09	0.999	0.032
	310	4.85	0.999	0.079

猝灭机理,而且 C. I.135、C. I.185 与 HSA 的 K_a 值 均<10⁶L/mol,说明 C. I.135、C. I.185 与 HSA 之间 的结合作用比较弱。

为验证上述荧光增白剂与 HSA 相互作用的 猝灭机理为静态猝灭的实验结果,选择紫外-可见 吸收光谱法^[18]进行求证。HSA 的紫外吸收主要 来源于 Phe 中的苯基、Tyr 的酚基和 Trp 的吲哚基 对光的吸收,并且 HSA 中的肽键对光也有很强的 吸收^[19]。在一般的研究中,常利用紫外-可见吸 收光谱法对生物大分子构象的变化、生色团的环 境、小分子物质对蛋白质的荧光猝灭机理等方面 进行研究^[20,21]。

HSA 与 C. I.135、C. I.185 相互作用体系的紫 外-可见吸收光谱谱图如图 5 所示,体系的差吸收 光谱^[18]为[[HSA-C. I.135]-C. I.135]及[[HSA-C. I.185]-C. I.185],两者与 HSA 的紫外-可见吸 收光谱没有完全重叠,表明了 C. I.135、C. I.185 与 HSA 的结合后形成了新的基态复合物,从而使得 紫外-可见吸收光谱发生改变,因此可以进一步证 明了 C. I.135、C. I.185 与 HSA 相互作用的机理是 一个静态猝灭机理。



 $C_{\text{HSA}} = C_{\text{C. I.135}} = C_{\text{C. I.185}} = 2.0 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ a.C. I.135; b.C. I.185

- **图 5** C. I.135、C. I.185 与 HSA 相互作用的 紫外-可见吸收光谱图
- Fig.5 UV-Vis absorption spectrum of interaction between C. I.135 and C. I.185 on HSA

2.3 荧光增白剂与 HSA 的结合模式

小分子配体与生物大分子相互作用的过程中 必定有作用力的产生,这些作用力类型主要包括 静电作用力、疏水作用力、范德华力、氢键作用力 以及空间位阻排斥力等^[22,23],采用 Van't Hoff 方 程(方程式 3、方程式 4)计算出 HSA-C. I.135、 HSA-C. I.185 体系的热力学参数^[22,23],并根据热 力学参数判断 HSA-C. I.135、HSA-C. I.185 反应体 系的主要作用力类型^[22,23]。

$$\ln K_a = \Delta H/RT + \Delta S/R \tag{3}$$

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S \tag{4}$$

式中, K_a 为相互作用体系的结合常数, ΔH 为焓变, ΔS 为熵 变, ΔG 言布斯自由能变,R为气体常数,T为绝对温度。

图 6 为 3 个不同温度下 HSA-C. I. 135、HSA-C. I. 185 相互作用体系的 ln*K*_a 对 1/*T* 作图,计算 结果列于表 3 中。从表 3 可以看出两个相互作用 体系的 Δ*G* 是负值,可推出 C. I. 135、C. I. 185 与 HSA 是自发进行结合, C. I. 135、C. I. 185 与 HSA



a.C. I.135; b.C. I.185

图 6 C. I.135、C. I.185 与 HSA 相互作用的 Van't Hoff 关系图

Fig.6 Van't Hoff plots of the interaction between C. I.135 and C. I.185 on HSA

表 3 在 3 个不同温度下, C. I.135、C. I.185 与 HSA 相互作用的热力学参数

Tab.3	Thermo	odynamic	parar	neters for	the inte	raction
between	C. I.135	and C. I	.185 a	and HSA	at three	different

temperatures

作用类型	<i>T/</i> K	$\begin{array}{c} \Delta H / \\ (k \mathbf{J} \boldsymbol{\cdot} \\ mol^{-1}) \end{array}$	$\Delta G/$ (kJ· mol ⁻¹)	$\frac{\Delta S/(\mathbf{J} \cdot \mathbf{mol}^{-1} \cdot \mathbf{K}^{-1})}{\mathbf{K}^{-1}}$	R^2	S.D.
HSA-C. I.135	298 304 310	-31. 54	-27. 42 -27. 34 -27. 25	-13.81	0. 999	0.011
HSA-C. I.185	298 304 310	-31.07	-27. 93 -27. 86 -27. 80	-10.57	0. 999	0.008

结合体系的 ΔH 与 ΔS 也都是负值,证明两个体系 是都是以氢键和范德华力为主导力^[22,23],并且 ΔH 是负值,证明 C. I.135、C. I.185 与 HSA 在进行 结合时会释放热量。

2.4 三维荧光光谱实验

HSA 的三维荧光光谱一般有 4 个特征峰,主要包括代表氨基酸残基(Trp、Tyr、Phe)的峰 1、代表多肽骨架的峰 2、两个瑞利散射峰^[2426],因此可以根据峰 1 及峰 2 的荧光强度变化的大小来判断



a.HSA; b.HAS-C. I.135; c.HSA-C. I.185

图7 HSA-C. I.135、HSA-C. I.185 与 HSA 相互作用的三维荧光光谱图

Fig.7 Three-dimensional fluorescence spectra of the interaction between C. I.135 and C. I.185 on HAS

表 4 HSA 与 HSA-C. I.135、HSA-C. I.135 的 三维荧光表征数据

 Tab.4
 Three-dimensional fluorescence spectral

characteristics	of	HSA	and	HSA-C.	1.135	, HSA-C.	1.185
-----------------	----	-----	-----	--------	-------	----------	-------

木	目互作用体系	峰1	峰 2
HSA only	峰位λ _{ex} /λ _{em} /(nm/nm) 荧光强度/a.u.	290/349.51 750.25	235/347.61 425.72
HSA-C. I.135	峰位 $\lambda_{ m ex}/\lambda_{ m em}/(nm/nm)$ 荧光强度/a.u.	290/346.12 560.45	235/346.59 385.14
HSA-C. I.185	峰位 $\lambda_{\mathrm{ex}}/\lambda_{\mathrm{em}}/(\mathrm{nm/nm})$ 荧光强度/a.u.	290/345.67 500.05	235/345.15 185.66

C. I.135、C. I.185 对 HSA 的构象及氨基酸残基微环境的影响。如图 7 所示,加入 C. I.135 与 C. I. 185 后, HSA 的峰 1、峰 2 荧光强度均降低,数据信息列于表 4 中。

从表4中可观察到C.I.135、C.I.185加入到HSA后,HSA的两个荧光特征峰的荧光强度均有所下降,并且加入C.I.135后,HSA的峰1蓝移了3.39 nm,峰2蓝移了1.02 nm;加入C.I.185后,HSA的峰1蓝移了3.84 nm,峰2蓝移了2.45 nm。实验结果说明,C.I.135、C.I.185与HSA结合后都形成新的复合物,导致HSA的三维荧光峰发生蓝移,HSA的氨基酸残基的微环境以及HSA的多肽骨架结构都受到影响^[26]。

2.5 分子模拟对接实验

分子模拟对接技术是研究分子相互作用的一种常用的方法,它能获得配体和受体结合构象、作用位点和作用力等信息^[27-29],可以对光谱实验结果提供进一步的验证。如图 8 所示,将 C. I.135、C. I.185 与 HSA 进行对接,C. I.135、C. I.185 的对接分数分别为 6.53、7.51,由于较高的对接分数对应于物质与结合位点之间的较大结合常数^[29],因此对接结果预测 C. I.185 比 C. I.135 更容易与HSA 结合。此结果与稳态荧光猝灭实验得到的结果相吻合。



a.HAS-C. I.135;b.HSA-C. I.185 **图 8** HSA-C. I.135、HSA-C. I.185 与 HSA 相互作用的分子模拟对接

Fig.8 Molecular docking simulation of the interaction between C. I.135 and C. I.185 on HAS

如图 9 所示, C. I. 135 与 HSA 结合作用后被 HSA 的 Ala291、Glu292、Arg222、Phe223、Lys195、 Ile294、Lys286、Ser287、Ala258、Als262、Ile264、 Leu260、Asp256、Arg257、Val241、Leu219、Leu238、 Trp214、Phe211、Lys199、Ala210、Ser202、Leu203 氨 基酸残基所包围,而C.I.185 与 HSA 结合作用后 被 HSA 的 Ser287、Ala291、Val293、Ile290、Ala261、 Leu260、Ile264、Leu234、Ile271、Phe223、Leu238、 His242、Arg222、Leu219、Arg218、Trp214、Ala215、 Leu481、Ser202、Ala210、Phe211、Lys212、Lys199 氨 基酸残基所包围。C.I.135 与 C.I.185 周围的氨 基酸残基数量均>20,所以 HSA 与 C.I.135、C.I. 185 之间的范德华力极强^[29]。





Fig.9 Molecular docking simulation of the interaction between C. I.135 and C. I.185 on HAS

如图 10 所示, C. I.135 与 HSA 中 Trp 214 的 距离为 2. 61 Å, C. I.185 与 HSA 中 Trp 214 的距离 为 2. 64 Å。C. I.185 距离 HSA 的 Trp 214 更近, 对





其影响更大,即 C. I.185 能更好地猝灭 HSA 的内 源性荧光,与稳态荧光光谱实验结论相符。C. I. 135、C. I.185 与 HSA 结合后都有 1 个氢键生成, C. I.135 与 HSA 的 Ala 219 形成了 1 个氢键集键长 为 2.32 Å,C. I.185 与 HSA 的 Arg 222 形成了 1 个 氢键,键长为 2.13 Å,表明氢键作用力是形成 HSA-C. I.135 及 HSA-C. I.185 体系的关键,并且 C. I.185 与 HSA 的结合作用更强,进一步验证了 稳态荧光猝灭实验结果。

3 结论

基于上述实验结果,表明在近生理条件下, C. I.135、C. I.185 能够有效猝灭 HSA 的内源性荧 光,并且会产生新的基态复合物,因此猝灭机制均 为静态猝灭机制,C. I.135、C. I.185 与 HSA 进行 结合是自发进行的,氢键和范德华力起到了主导 作用,C. I.135、C. I.185 与 HSA 结合后,还会引起 HSA 的氨基酸残基微环境以及多肽骨架构象发 生改变。

从分子水平上探讨荧光增白剂 C. I.135、C. I. 185 与 HSA 的相互作用机制,揭示荧光增白剂进 入人体后所带来的潜在生物学影响,对荧光增白 剂的更深层次的研究及新型荧光增白剂的开发提 供重要的参考价值。

参考文献:

- [1]中华人民共和国卫生与健康委员会食品安全标准与 监测评估司.食品中可能违法添加的非食用物质和易 滥用的食品添加剂名单(第 1-5 批汇总)[EB/OL]. 2011-04-22.
- [2]缪文彬,蒋伟,陈相.荧光增白剂致中国仓鼠卵巢细胞 微核形成与基因突变研究[J].食品安全质量检测学 报,2016,7(1):188-191.
- [3]姜楠,刘思洁,李青,等.荧光增白剂应用现状及研究 进展[J].中国卫生工程学,2019,18(3):476-480.
- [4]高欢,魏金慧,张彤,等.高效液相色谱法测定口罩中5
 种荧光增白剂[J].上海纺织科技,2023,51(12):74-77.
- [5]陈思宇,张铃娟,戈磊,等.HPLC-FLD 法测定酒店用纺 织品中 8 种荧光增白剂[J].印染,2022,48(9):59-63.
- [6]潘可亮,李树伟.牛血清白蛋白与荧光增白剂相互作 用的荧光光谱法研究[J].光子学报,2011,40(7): 1 082-1 086.
- [7] 胡艳军.生物活性小分子与蛋白质和 DNA 相互作用的

研究[D].武汉:武汉大学,2007.

- [8]周慧凤.光谱及分子对接技术研究小分子药物与 DNA、蛋白的相互作用[D].长春:长春师范大学, 2017.
- [9]谢春生,唐青,卢婕婕,等.孔雀石绿电化学传感器修 饰材料研究进展[J].分析试验室,2022,41(8):977-983.
- [10]石屹峰,边蕾.以人血清白蛋白为载体的长效蛋白质药物的研究进展[J].中国医药生物技术,2008,3(6):59-61.
- [11] 玉叶,廖娟,文彬,等.光谱法研究牛磺酸与人血清白蛋白相互作用[J].量子电子学报,2023,40(6):827-835.
- [12]刘晓娟,邓培渊,范春丽,等.环氧虫啶与人血清白蛋白的相互作用[J].农药学报,2024,26(1):160-167.
- [13] JOSEPH R L. Principles of fluorescence spectroscopy, 3rd ed[M].New York:Springer,2006.
- [14]刘浩,樊世萌,欧阳敬禹,等.雷公藤红素与人血清白 蛋白的相互作用[J].化学试剂,2022,44(6):810-815.
- [15] HU Y J, LIU Y, PI Z B, et al. Interaction of cromolyn sodium with human serum albumin: A fluorescence quenching study[J]. Bioorg. Med. Chem., 2005, 13(24): 6 609-6 614.
- [16] 袁涛,覃姣兰,黄如川,等.8-羟基喹啉衍生物镍(Ⅱ) 配合物的合成、晶体结构、抗肿瘤活性及其与 BSA 作 用研究[J].化学试剂,2023,45(5):51-58.
- [17] HUANG S, QIU H N, LIU Y, et al. Molecular interaction investigation between three CdTe:Zn²⁺ quantum dots and human serum albumin: A comparative study [J]. Colloid Surface B, 2015, 136(1):955-962.
- [18] KASHISH A, MOFIEED A, TAJ M, et al. A multi-spectroscopic and computational simulations study to delineate the interaction between antimalarial drug hydroxychloroquine and human serum albumin [J]. J. Biomol. Struct. Dyn., 2023, 41 (13) :6 377-6 393.
- [19] KIRTHI B M M, SHARRANAPPA N, SHIVMURTI C. Investigation of binding behaviour of procainamide hydrochloride with human serum albumin using synchronous, 3D fluorescence and circular dichroism [J]. J. Pharm.Anal., 2017, 7(2):103-109.
- [20] GITUMONI K, SHARAT S, VIVEK P, et al. Deciphering the intriguing molecular recognition of a novel indenephloroglucinol tethered compound with human serum albumin using multi-spectroscopy and molecular docking

studies[J].J.Mol.Struct., 2024,1 306:137 796.

- [21] NAHID S, SABA H, ZAHRA A, et al. Interaction of a cobalt (III) complex containing β-amino alcohol with human serum albumin (HSA): Spectroscopic and molecular docking methods [J]. J. Mol. Liq., 2023, 384: 122 187.
- [22] 袁涛, 覃姣兰, 罗翠萍, 等.2-(2-氨基苯基) 并咪唑铂 (Ⅱ) 配合物的合成及其与 BSA 作用的光谱研究[J]. 化学试剂, 2023, **45**(2):62-68.
- [23] LI H M, HUANG Y M, LIU Y, et al. Thermodynamics, conformation, and biocatalytic performance of glucose oxidase combined with black phosphorus quantum dots [J].Langmuir, 2023, 39:334-342.
- [24] GULAM R M H B, EUN J L, WON K C, et al. Biophysical study on the interaction between eperisone hydrochloride and human serum albumin using spectroscopic, calorimetric, and molecular docking analyses [J]. Mol. Pharmaceut., 2017, 14(5):1 656-1 665.
- [25] GAN R X, ZHAO L D, SUN Q M, et al. Binding behav-

ior, of trelagliptin and human serum albumin: Molecular docking, dynamical simulation, and multi-spectroscopy [J]. *Spectrochim.Acta A*, 2018, **202**:187-195.

- [26] HUANG S, PENG S S, SU W, et al. In vitro interaction investigation between three Ru (II) arene complexes and human serum albumin: Structural influences [J]. RSC Adv., 2016, 6:47 043.
- [27] MANDEEP K, MILY B, BANIBRATA M. Deciphering conformational changes in human serum albumin induced by bile salts using spectroscopic and molecular modeling approaches [J]. J. Mol. Liq., 2023, 390(15): 123 026.
- [28]李娜,周伟杰,张丹,等.17α-乙炔基雌二醇与人血清 白蛋白的作用机制研究[J].分析试验室,2022,
 41(3):255-261.
- [29] TONG J Q, TIAN F F, LIU Y, et al. Thermodynamic properties of the site-selective binding of a bromo-hydrazone and its unsubstituted analogue to human serum albumin[J].J.Solution.Chem., 2015, (44):193-205.