

# 荧光光谱法结合分子对接探究 pH 对姜黄素与牛血清白蛋白结合的影响

闫 焕, 张 炎, 苏冬雨, 周素珍, 范金波\*

(渤海大学食品科学与工程学院, 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心, 锦州 121013)

**摘要:** **目的** 采用荧光光谱法结合分子对接探究姜黄素(curcumin, CUR)与牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)在不同 pH 条件下相互作用。**方法** 通过荧光光谱法计算结合常数和热力学参数分析 CUR 对 BSA 荧光猝灭作用和机制; 采用位点 Marker 和分子对接分析结合位点。**结果** CUR 与 BSA 结合形成了复合物, 产生内源性荧光猝灭作用, 属于静态猝灭。不同 pH 条件下的结合作用力不同, 但结合位点数目均为 1。由同步荧光可知, 色氨酸残基附近疏水性增强, 说明与 CUR 结合后 BSA 构象出现了收缩, 结合位点靠近色氨酸。位点 Marker 实验证明 pH 影响 CUR 与 BSA 结合位点, 分子对接结果表明, pH 7.4 时 CUR 与 BSA 的结合位点位于 Sudlow's site I 附近。**结论** 本研究表明 pH 影响 CUR 与 BSA 的结合反应, 为 CUR 的活性保护及蛋白递送载体研究提供理论支持。

**关键词:** 牛血清白蛋白; 荧光光谱法; 姜黄素; 分子对接

## Study on the effect of pH on the binding of curcumin and bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy combined with molecular docking methods

YAN Huan, ZHANG Yan, SU Dong-Yu, ZHOU Su-Zhen, FAN Jin-Bo\*

(College of Food Science and Technology, Bohai University; National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, Jinzhou 121013, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the interaction between curcumin (CUR) and bovine serum albumin (BSA) at different pH by fluorescence spectroscopy combined with molecular docking. **Methods** The binding constants and thermodynamic parameters were calculated by fluorescence spectroscopy to analyze the quenching effect and mechanism of CUR on BSA fluorescence, and the binding sites were analyzed by site marker and molecular docking. **Results** The compound was formed by the combination of CUR and BSA, which produced endogenous fluorescence quenching, which was static quenching. The binding force varied under different pH conditions, but the numbers of binding sites were all 1. According to synchronous fluorescence, the hydrophobicity was enhanced in the vicinity of the tryptophan residue, indicating that BSA conformation contracted after binding to CUR and the binding

基金项目: 辽宁省科技厅项目(2022JH5/10400062)

Fund: Supported by the Project of Science and Technology Department of Liaoning Province (2022JH5/10400062)

\*通信作者: 范金波, 博士, 副教授, 主要研究方向为果蔬加工及分子营养。E-mail: Jinbo\_fan@hotmail.com

\*Corresponding author: FAN Jin-Bo, Ph.D, Associate Professor, College of Food Science and Technology, Bohai University; National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, Jinzhou 121013, China. E-mail: Jinbo\_fan@hotmail.com

site was close to the tryptophan. Site marker experiments demonstrated that pH affected the binding site of CUR to BSA, and molecular docking results indicated that the binding site of CUR to BSA was near Sudlow's site I at pH 7.4.

**Conclusion** This study shows that pH affects the binding reaction between CUR and BSA, and it is of great significance to study the activity protection and protein-based delivery vector of CUR.

**KEY WORDS:** bovine serum albumin; fluorescence spectroscopy; curcumin; molecular docking

## 0 引言

姜黄素(curcumin, CUR)是一种二酮类多酚物质,广泛存在于姜黄等植物中,在食品生产中用作着色剂。CUR具有抗肿瘤、抗氧化和抗炎等多种活性<sup>[1-2]</sup>。研究表明连续摄入 CUR 对人体无毒<sup>[3-4]</sup>。因此, CUR 作为功能活性物质具有广泛应用前景,但是较差溶解性和生物利用度制约了其应用。研究人员将其与生物大分子结合,如蛋白、多糖、磷脂等,提高了 CUR 的应用效益<sup>[4-7]</sup>。牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)作为一种生物大分子,可与小分子物质发生结合反应,在血液中起到储存和运输小分子的作用<sup>[8]</sup>。BSA 是血浆蛋白,含有 2 个色氨酸残基(TRP134、TRP213)<sup>[9]</sup>。Site I 位点和 Site II 位点位于 BSA 结构域中 IIA 和 IIIA 的疏水腔,是小分子结合的主要部位,其中 IIA 区域的活性最高<sup>[6]</sup>。BSA 的结合位点很多,BSA 作为载体包埋、递送 CUR 已有不少报道<sup>[10-13]</sup>。BSA 与人类血清白蛋白同源性很高<sup>[7]</sup>,而 BSA 的性价比更高,所以通常选择使用 BSA 来研究小分子与蛋白的相互作用。

蛋白质的天然构象是由蛋白质官能团之间的各种分子内相互作用及溶剂分子与蛋白质官能团之间的分子间相互作用调节的。此外,温度、pH 变化、压力或其他共溶剂分子的加入等其他因素也会使蛋白质原生构象发生变化,导致蛋白质展开<sup>[14-15]</sup>。张驰<sup>[16]</sup>对比了 pH 为 3.0、5.0、7.0、9.0 和 11.0 5 种条件下,反式肉桂酸/槲皮素和花生蛋白的相互作用,发现不同 pH 影响可溶性蛋白的含量,进而影响两者的结合反应,并且改变了氨基酸微环境。WASEEM 等<sup>[17]</sup>采用多光谱方法阐明了鸢尾素在不同 pH (2.0~12.0)下的结构和构象变化。光谱测量显示,鸢尾素在碱性 pH 范围内可保持其结构(二级和三级),在整个 pH 范围内观察到的结构变化极小。然而,在酸性 pH 范围内,二级和三级结构的改变是明显的。圆二色(circular dichroism, CD)光谱分析表明,在酸性 pH 范围内,鸢尾素二级结构增加,这意味着鸢尾素在酸性 pH 下更稳定,在 pH 4.0 时稳定性和致密度最高。分子动力学模拟也表明,鸢尾素在 pH 为 4.0 和 6.0 的构象空间中具有更高的稳定性。由于蛋白质稳定性与其功能直接相关,因此 pH 在特定条件下决定蛋白质功能方面具有主要作用。

pH 在 BSA 与多酚类化合物结合过程中也存在一定差异。RAWEL 等<sup>[18]</sup>研究发现在非碱性 pH 范围内,当 pH 升

高时,BSA 与槲皮黄酮和没食子酸的结合常数增加,阿魏酸和绿原酸则相反,但结合量增大。ENGSTRÖM 等<sup>[19]</sup>表明在低 pH 下,单宁与 BSA 非共价结合能力是形成高度稳定的复合物的先决条件。然而不同 pH 对于 CUR 与 BSA 的结合反应的影响鲜见报道,有待进一步深入研究。本研究通过荧光光谱法结合分子对接技术,拟探究 pH 变化对 CUR 与 BSA 结合反应的影响,并通过分子对接研究 CUR 与 BSA 结合方式和结合位点,对于 CUR 的活性保护和稳态化技术开发利用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

牛血清白蛋白(纯度 98%)、姜黄素(纯度 75%)、布洛芬(ibuprofen, IBUP)(纯度 98%)、华法林(warfarin, WARF)(纯度 98%)[生工生物工程(上海)有限公司]。

### 1.2 仪器与设备

F-7000 荧光分光光度计(日本日立高新技术公司); ML104/02 电子天平(精度 0.0001 g)、FE20 pH 计[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; UV-270 紫外-可见光分光光度计(日本 SHIMADZU 公司)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 CUR 与 BSA 的荧光光谱测定

荧光发射光谱测定:参考 WANG 等<sup>[20]</sup>的方法并稍作改动,取 7 支规格为 5 mL 的离心管,先加缓冲溶液,再加 30  $\mu\text{L}$   $1.2 \times 10^{-4}$  mol/L BSA 溶液,最后加 CUR 溶液,使离心管内的溶液总量为 3 mL,将样品在 298 K、310 K 下反应 0.5 h。激发波长为 280 nm,狭缝宽度为 2.5 nm(激发)和 5.0 nm(发射),发射波长为 290~450 nm。

猝灭率测定:参考 TU 等<sup>[21]</sup>的方法并稍作改动。采用方程(1)~(3)计算蛋白与小分子相互作用荧光猝灭参数和结合参数<sup>[22]</sup>:

$$\text{猝灭率} = \frac{F_0 - F}{F_0} \quad (1)$$

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [Q] \quad (2)$$

$$\lg\left(\frac{F_0}{F} - 1\right) = \lg K_a + n \lg [Q] \quad (3)$$

式中:  $F_0$  为 BSA 荧光强度;  $F$  为加 CUR 后 BSA 荧光强度;  $[Q]$  为 CUR 的浓度(mol/L);  $K_q$  为双分子猝灭速率常数;  $\tau_0$  为荧光团的平均寿命( $10^{-8}$  s);  $K_{sv}$  为猝灭常数;  $K_a$  为结合常数。

蛋白质与小分子结合主要靠次级键作用<sup>[23]</sup>, 采用公式(4)、(5)计算热力学参数, 依据焓变和熵变可以判断作用力类型<sup>[24]</sup>。

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

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

式中:  $K_1$ 、 $K_2$  分别为两温度下 CUR 与 BSA 的结合常数;  $\Delta G$  为吉布斯自由能变,  $\Delta H$  为焓变,  $\Delta S$  为熵变,  $R$  为气体摩尔常数。同步荧光光谱测定: 在 298 K 条件下, 按照发射光谱测定中的样品配比和添加顺序制备样品, 狭缝宽度同荧光发射光谱, 分别以  $\Delta\lambda=15$  nm 和  $\Delta\lambda=60$  nm 为波长间隔, 在 200~350 nm 范围内扫描样品的同步荧光光谱。

### 1.3.2 CUR 与 BSA 的结合位点研究

按照荧光发射光谱方法(见 1.3.1), 先加入缓冲溶液和 BSA 溶液, 再加 25  $\mu$ L 位点 Marker 溶液, 混匀反应 20 min, 再加入 CUR 溶液, 后续操作同 1.3.1。

### 1.3.3 分子对接

AutoDock vina 4.0 用于研究 CUR 与 BSA 分子对接。

BSA(4OR0)3D 结构来源于 RCSB PDB 数据库, 通过 Pymol 提取 A 链、删除水、添加 H 原子。CUR (CID: 969516)3D 结构来自 PubChem 数据库。设置对接区域( $x=82$ ,  $y=45$ ,  $z=67$ )以覆盖整个蛋白, BSA 刚性、配体柔性对接, 其他参数均默认<sup>[4]</sup>。

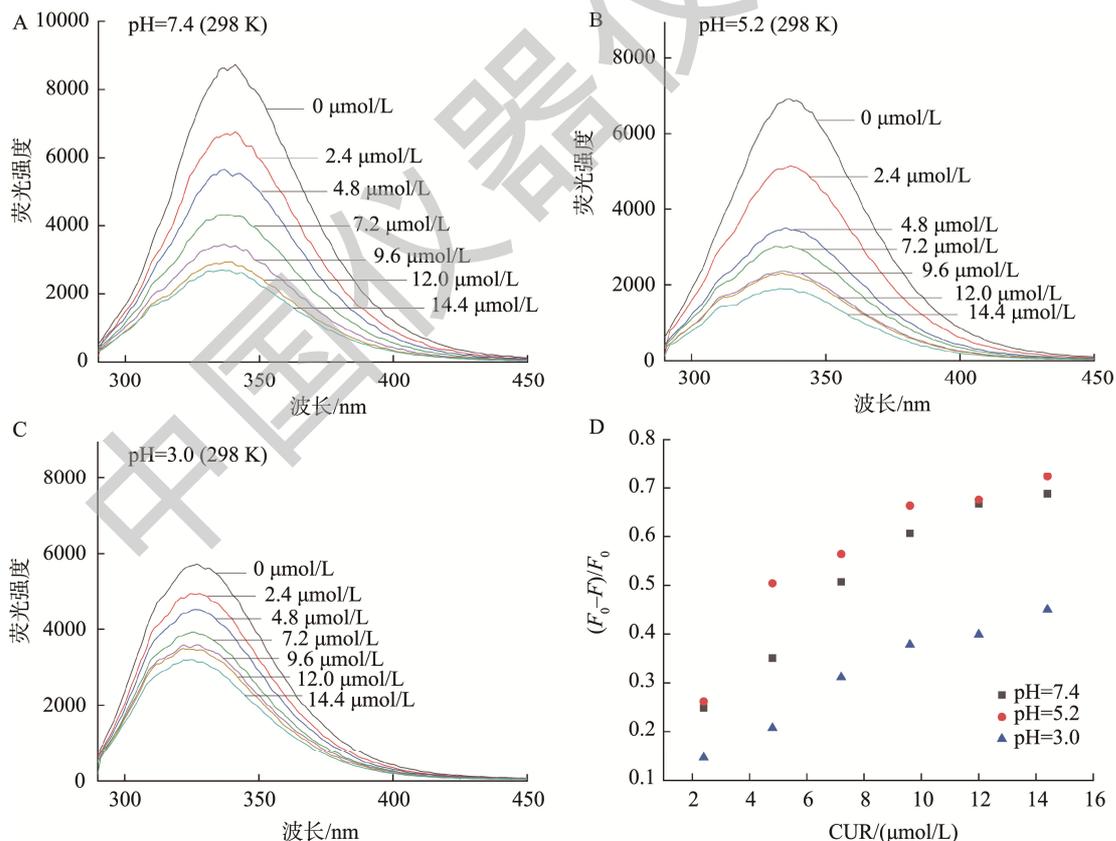
## 1.4 数据分析

实验重复 3 次, 数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差, 利用 IBM SPSS Statistics 25.0 软件进行显著性分析, 差异水平  $P<0.05$ , 采用 Origin 9.0 软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 CUR 与 BSA 相互作用的荧光光谱测定

由图 1 可知, 随着 CUR 的加入, BSA 的荧光强度逐渐降低, pH 3.0、5.2、7.4 时呈现趋势相同。当配体加入到含有荧光团蛋白质溶液中时, 溶液的荧光发射通常由于小分子对荧光的猝灭而降低。任何荧光团荧光的降低被称为猝灭, 并且这是由于荧光团和猝灭剂之间的各种分子相互作用导致<sup>[25-26]</sup>。推测 CUR 的加入, 产生了 BSA 荧光猝灭现象, 该结果与 CUR 和 BSA 发生结合反应有关。



注: BSA 浓度为 1.2  $\mu$ mol/L, CUR 浓度依次为 0、2.4、4.8、7.2、9.6、12.0、14.4  $\mu$ mol/L, 图 2 相同。

图 1 不同 pH 条件下 CUR 对 BSA 的荧光猝灭作用(298 K)

Fig.1 Fluorescence quenching of BSA by CUR at different pH conditions (298 K)

如图 1 所示, 在 298 K 的温度下, 随着酸性的增强(pH 降低), CUR 与 BSA 结合后荧光强度峰值明显下降。其中, 在 pH 5.2 时, BSA 的峰值降低最为显著, 降低了 72%; 在 pH 7.4 和 pH 3.0 时, BSA 的峰值分别降低了 69%(从 8745 至 2726)和 45%(从 5721 至 3147)。由图 1D 可以明显看出, 随着 CUR 浓度增大, 猝灭率也在逐渐增大, 但 pH 3.0 时猝灭率最低, 可能是因为体系的 pH 小于 BSA 的等电点 4.8, 蛋白表面正电荷增多影响了与 CUR 的结合<sup>[17,27]</sup>; pH 5.2 与 pH 7.4 时, 猝灭率没有显著的差异, 均显著高于或略高于 pH 3.0。不同 pH 的样品  $\lambda_{\max}$  均发生了蓝移, 如 pH 7.4 时  $\lambda_{\max}$  从 342 nm 蓝移至 336 nm, pH 5.2 时从 337 nm 移至 333 nm, pH 3.0 时从 326 nm 移至 325 nm。QI 等<sup>[28]</sup>研究发现, 当叶黄素二棕榈酸酯加入 BSA 溶液中时, BSA 的荧光强度随着显著的蓝移(从 344 nm 到 335 nm)而降低。其原因可能是由于 BSA 发色团周围的极性在与叶黄素二棕榈酸酯相互作用时降低, 或者芳香族氨基酸残基周围微环境的疏水性增加。推测 pH 的改变会影响 CUR 对 BSA 微环境的影响。结果表明, 3 种 pH 条件下, CUR 均对 BSA 产生内源性荧光

猝灭作用, 说明 CUR 与 BSA 发生结合反应。

由图 2 可知, 温度 310 K 时与温度 298 K 时结果基本一致, 3 种 pH 条件下, CUR 对 BSA 均产生荧光猝灭作用。CUR 在 pH 5.2 时对 BSA 的猝灭率最高, 在 pH 3.0 时猝灭率最低。

## 2.2 荧光猝灭机制

由表 1 可知, pH 7.4 时, 温度从 298 K 到 310 K 时  $K_{sv}$  降低, 同时  $K_q$  大于  $2 \times 10^{10}$ , 可知荧光猝灭属于静态猝灭。CUR 与 BSA 的  $K_a$  值在 pH 7.4 和 pH 5.2 时都在  $10^5$  数量级, 说明在此条件下 CUR 与 BSA 产生了强结合作用; 而在 pH 3.0 时,  $K_a$  值在  $10^4$  数量级, 可以判定为二者之间的结合作用是中等的。当 pH 5.2 和 pH 7.4 时, 可以看出温度从 298 K 升高到 310 K,  $K_a$  值在减小, 进一步说明在结合过程中温度升高使 CUR-BSA 复合物形成能力有所降低。结合位点数  $n$  在 1 附近, 并且  $n$  随着 pH 的减小也明显地减小。因此, 在 CUR 与 BSA 结合过程中, pH 的影响比较大。

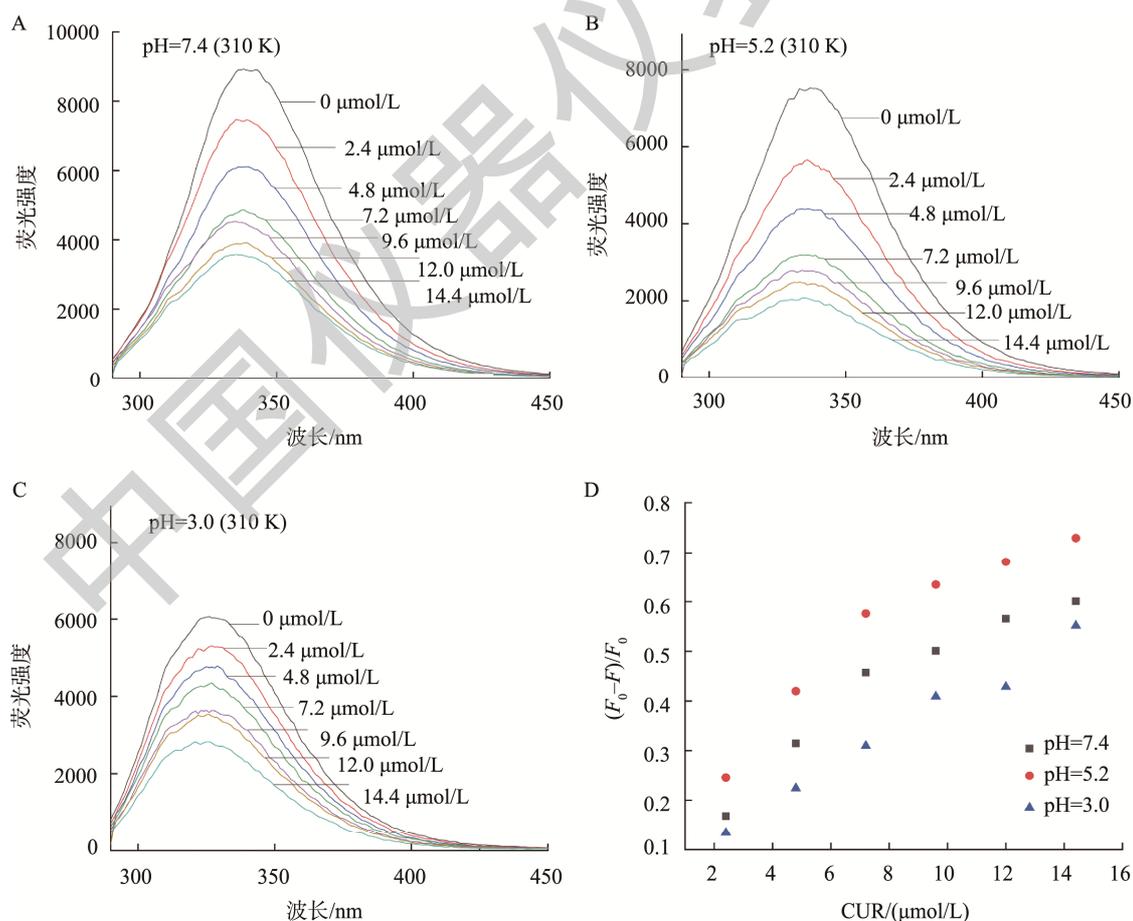


图 2 不同 pH 条件下 CUR 对 BSA 的荧光猝灭作用(310 K)

Fig.2 Fluorescence quenching of BSA by CUR at different pH conditions (310 K)

表 1 CUR 与 BSA 结合的相关常数

Table 1 Correlation constants of the CUR binding to BSA

条件	$K_{sv}$ /(L/mol)	$K_q$ /[L/(mol·s)]	$R^1$	$K_a$ /(L/mol)	$n$	$R^2$
310 K pH 7.4	$1.062 \times 10^5$	$1.062 \times 10^{13}$	0.9994	$5.001 \times 10^5$	1.134	0.9909
298 K pH 7.4	$1.553 \times 10^5$	$1.553 \times 10^{13}$	0.9978	$7.345 \times 10^5$	1.137	0.9794
310 K pH 5.2	$1.815 \times 10^5$	$1.815 \times 10^{13}$	0.9989	$1.482 \times 10^5$	1.183	0.9946
298 K pH 5.2	$1.847 \times 10^5$	$1.847 \times 10^{13}$	0.9980	$4.813 \times 10^5$	1.082	0.9739
310 K pH 3.0	$7.313 \times 10^4$	$7.313 \times 10^{12}$	0.9964	$2.486 \times 10^4$	1.110	0.9779
298 K pH 3.0	$5.817 \times 10^4$	$5.817 \times 10^{12}$	0.9995	$1.931 \times 10^4$	0.904	0.9828

注:  $R^1$ :  $K_{sv}$  相关系数,  $R^2$ :  $K_a$  相关系数。

### 2.3 热力学常数分析和作用力类型

由表 2 可知, pH 7.4 时, CUR 与 BSA 结合反应  $\Delta H < 0$ ,  $\Delta S > 0$ , 且  $\Delta H/\Delta G > 70\%$ , 说明焓驱动, 作用力为静电相互作用; 而在 pH 5.2 和 pH 3.0 时, CUR 与 BSA 结合反应  $\Delta H > 0$ ,  $\Delta S > 0$ , 此时疏水相互作用发挥主要作用。此外, 不同 pH 时  $\Delta G < 0$ , 说明结合作用自发进行, 不受 pH 的影响。

表 2 CUR 与 BSA 结合的热力学参数

Table 2 Thermodynamic parameter of the CUR binding to BSA

pH	T/K	$\Delta H$ /(kJ/mol)	$\Delta S$ /(J/(mol·K))	$\Delta G$ /(kJ/mol)
7.4	298	-24.61	29.72	-33.46
	310			-33.82
5.2	298	71.99	350.38	-32.42
	310			-36.62
3.0	298	163.55	630.86	-24.45
	310			-32.02

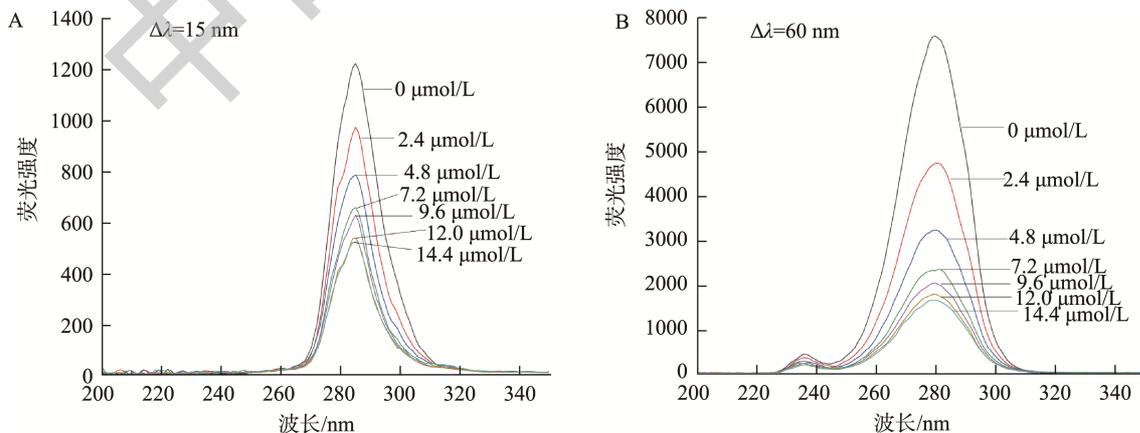


图 3 CUR 对 BSA 的同步荧光光谱的影响

Fig.3 Effects of CUR on synchronous fluorescence spectra of BSA

### 2.4 CUR 与 BSA 结合的同时同步荧光光谱测定

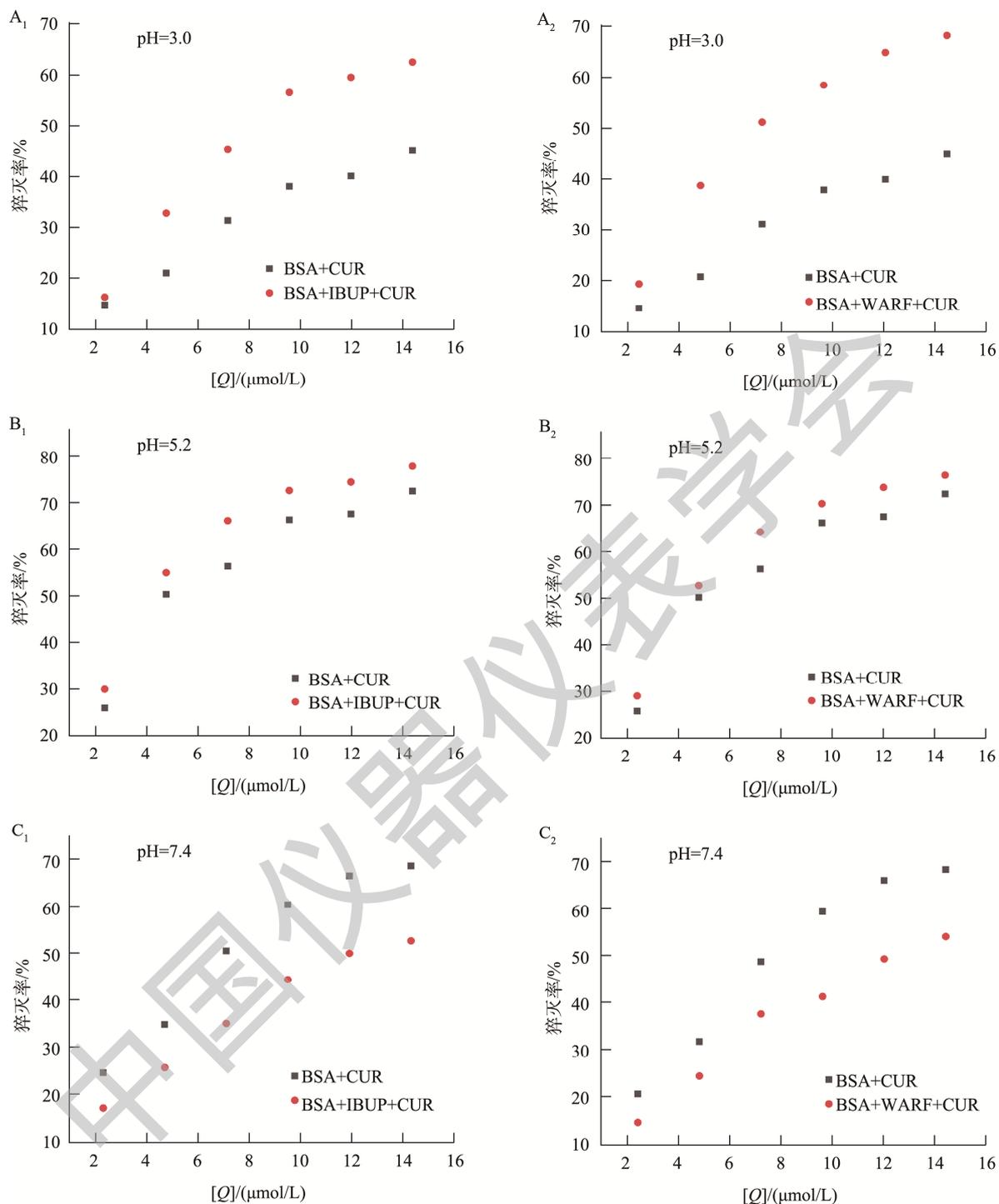
$\Delta\lambda=60$  nm、 $\Delta\lambda=15$  nm 分别对应 Trp 残基和 Tyr 残基特征荧光, 从荧光光谱变化规律可以推测蛋白质构象的变化<sup>[29-30]</sup>。

由图 3 可知, BSA 浓度不变, 随着加入 CUR 浓度的增加, Tyr 残基、Trp 残基荧光强度均呈规律性下降趋势, 当 CUR 浓度达  $14.4 \mu\text{mol/L}$  时, 荧光强度分别下降 58% 和 78%。结果说明两点: 一是 Trp 残基作为内源性荧光来源贡献率更高; 二是 CUR 与 BSA 的结合位点可能更接近 Trp 残基。SIDDIQUI 等<sup>[31]</sup>研究发现, 香草醛与 BSA 的结合在  $\Delta\lambda=15$  nm 附近的同步光谱中没有显著的偏移, 表明增加香草醛浓度对酪氨酸残基的微环境没有显著的影响。相比之下,  $\Delta\lambda=60$  nm 处的发射光谱显示出 3 nm (343~340 nm) 的蓝移, 表明色氨酸环境被改变, 并且残基附近的疏水性在香草醛与 BSA 相互作用时增加。由图 3A 可知, Tyr 残基的  $\lambda_{\text{max}}$  基本不变, 说明酪氨酸微环境没有发生改变; 由图 3B 可知, Trp 残基  $\lambda_{\text{max}}$  表现出略微蓝移(280~279 nm), 推测 Trp 残基附近极性减弱, 蛋白出现了收缩<sup>[28]</sup>。

### 2.5 CUR 与 BSA 结合位点分析

WARF 和 IBUP 可分别与 BSA Site I 位点、Site II 位点发生特异性结合, 用来判断 CUR 与 BSA 的结合位点<sup>[32]</sup>。

位点 Marker WARF 和 IBUP 对 CUR 结合 BSA 的荧光光谱的影响结果见图 4。其中, 在 pH 3.0 和 pH 5.2 条件下, IBUP 和 WARF 的存在均会使荧光猝灭率呈现显著性增加(图 4A)或略有增加(图 4B), 由此可以推断 CUR 与 BSA 的结合位点既不在 Site I 和 Site II 位点附近。在 pH 7.4 条件下, 如图 4C 所示, IBUP 和 WARF 的加入影响了 CUR 与 BSA 的结合, 呈现显著下降趋势, 所以推测 CUR 与 BSA 的结合位点可能在 Site I 和 Site II 位点之间<sup>[33]</sup>。因此, 可以初步推断溶液 pH 极大可能会影响 CUR 在 BSA 上的结合位点。



注: BSA 浓度均为 1.2 μmol/L, WARF/IBUP 浓度均为 6.0 μmol/L, CUR 浓度依次为 0、2.4、4.8、7.2、9.6、12、14.4 μmol/L (298 K)。

图 4 WARF 和 IBUP 对 CUR 与 BSA 结合的影响

Fig.4 Effects of WARF and IBUP on the binding of CUR to BSA

### 2.5 分子对接

由图 5 知, CUR 与 BSA 结合位点在 Sudlow's site I (IIA) 附近, 结合位点氨基酸残基有 SER201、ARG208、ALA212、

TRP213、ASP323、LEU326、LEU346、SER453、LEU480。分子对接的吉布斯自由能和结合常数分别为 -35.59 kJ/mol 和  $1.70 \times 10^6$  L/mol, 与荧光法结合常数存在差异, 可能主

要是由于蛋白处理不同环境条件下结构不同造成的<sup>[34]</sup>。通常情况下,疏水基团分布于 BSA 内部,而亲水基团多在表面。CUR 与 BSA 的结合可以通过氢键结合,如 ARG208、TRP213、ASP323、SER453 残基。另外,CUR 的芳香结构

与疏水氨基酸残基形成疏水相互作用,如 ALA212、LEU326、LEU346、LEU480 残基。荧光光谱和分子对接结果表明 CUR 与 BSA 主要通过疏水相互作用、静电相互作用和氢键的方式结合,结合位点在 Sudlow's site I 附近。

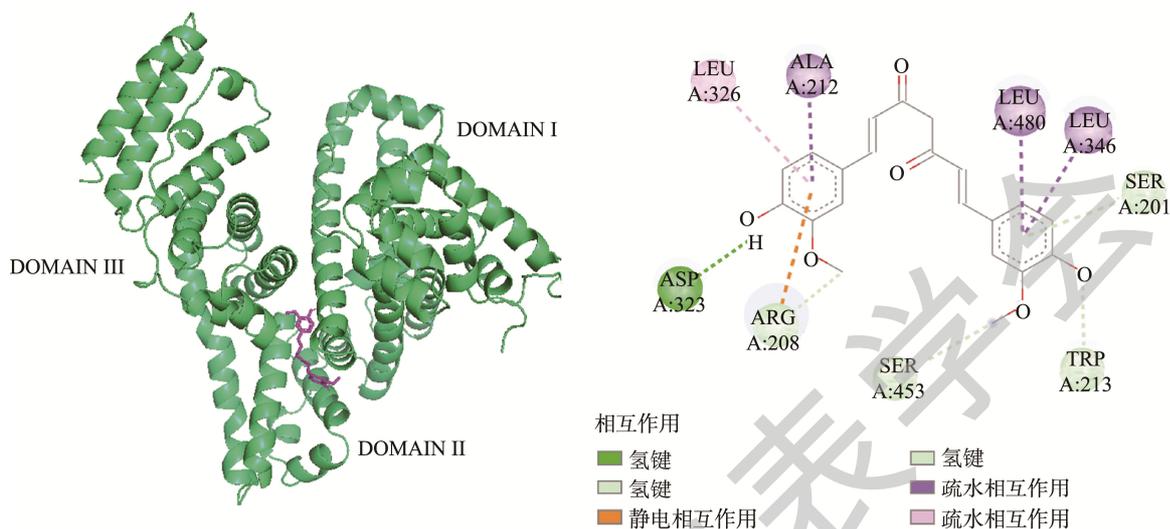


图 5 CUR-BSA 结合位点氨基酸及作用力

Fig.5 Binding site amino acids and interaction force of CUR binding to BSA

### 3 结 论

本研究采用荧光光谱法研究了 3 种 pH 条件下 CUR 与 BSA 的结合作用,分析结合作用机制,结合分子对接技术判定结合位点和作用力。结果表明不同 pH 条件下 CUR 对 BSA 均产生了静态猝灭,其中 pH 7.4 时具有较强的猝灭作用,结合常数最大,说明此时 CUR 与 BSA 更易结合;提供了可以促进 CUR-BSA 复合物形成的条件,降低 CUR 的降解。热力学分析结合分子对接结果判断疏水相互作用、氢键和静电相互作用为主要作用力;同步荧光表明 Trp 残基  $\lambda_{\max}$  出现蓝移,Trp 残基附近的极性减弱,疏水性增强,CUR 加入改变了 BSA 的构象;位点 Marker 实验表明在 pH 7.4 时,IBUP 和 WARF 的加入影响了 CUR 与 BSA 的结合,并且结合位点可能在 Site I 和 Site II 位点之间,与分子对接实验结果一致。而在 pH 3.0 和 pH 5.2 条件下,CUR 与 BSA 的结合位点既不在 Site I 和 Site II 位点附近,说明不同 pH 影响了 CUR 与 BSA 的结合反应,这将为探究 CUR 在体内的转运,以及为蛋白基载体的开发提供理论依据,从而实现 CUR 的保护和靶向递送,并且在今后研究中可加大对包封生物活性化合物的有效载体的构建,增加活性成分的利用率。

### 参考文献

- [1] ABOLHASSANI H, SAFAVI MS, HANDALI S, *et al.* Synergistic effect of self-assembled curcumin and piperine co-loaded human serum albumin nanoparticles on suppressing cancer cells [J]. *Drug Dev Ind Pharm*, 2020, 46(10): 1647-1655.
- [2] HIREMATH CG, KARIDURAGANAVAR MY, HIREMATH MB. Synergistic delivery of 5-fluorouracil and curcumin using human serum albumin-coated iron oxide nanoparticles by folic acid targeting [J]. *Prog Biomater*, 2018, 7(4): 297-306.
- [3] LIU JW, JIANG L, ZHANG YY, *et al.* Binding behaviors and structural characteristics of ternary complexes of  $\beta$ -lactoglobulin, curcumin, and fatty acids [J]. *RSC Adv*, 2017, 7(73): 45960-45967.
- [4] 麻奥. 多光谱法结合分子对接研究多酚和苋菜红与  $\beta$ -乳球蛋白结合的竞争作用[D]. 锦州: 渤海大学, 2021.  
MA AO. Study of the competitive interactions between polyphenols and amaranth for binding to  $\beta$ -lactoglobulin by multispectroscopic methods [D]. Jinzhou: Bohai University, 2021.
- [5] LIU Y, HUANG PW, HOU XF, *et al.* Hybrid curcumin-phospholipid complex-near-infrared dye oral drug delivery system to inhibit lung

- metastasis of breast cancer [J]. *Int J Nanomed*, 2019, 14: 3311–3330.
- [6] LEE EJ, KWON HS, LIM KH. Novel curcumin-loaded chitosan-polyelectrolyte complexed nanoparticles and their characteristics [J]. *Korean J Chem Eng*, 2021, 38(2): 354–365.
- [7] ACEVEDO-GUEVARA L, NIETO-SUAZA L, SANCHEZ LT, *et al*. Development of native and modified banana starch nanoparticles as vehicles for curcumin [J]. *Int J Biol Macromol*, 2018, 111: 498–504.
- [8] 殷欣, 包华燕, 梁丽. 营养活性物质的蛋白类载体研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(10): 3067–3073.
- YIN X, BAO HY, LIANG L. Research progress of protein-based carriers for nutraceuticals [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(10): 3067–3073.
- [9] YUAN SJ, ZHANG YY, LIU JX, *et al*. Structure-affinity relationship of the binding of phenolic acids and their derivatives to bovine serum albumin [J]. *Food Chem*, 2019, 278: 77–83.
- [10] FAN YT, YI J, ZHANG YZ, *et al*. Fabrication of curcumin-loaded bovine serum albumin (BSA)-dextran nanoparticles and the cellular antioxidant activity [J]. *Food Chem*, 2018, 239: 1210–1218.
- [11] MUTHAPPA R, PURUSHOTHAMAN BK, MEERA SBKM, *et al*. Kinetic modeling and optimization of the release mechanism of curcumin from folate conjugated hybrid BSA nanocarrier [J]. *Chem Prod Process Model*, 2020, 15(1): 20190026.
- [12] NEVES RP, UDENIGWE C, OKAGU O, *et al*. Effect of glycation on the interaction between BSA and curcumin [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2021, 98: 190–190.
- [13] SADEGHI R, MOOSAVI-MOVAHEDI AA, EMAM-JOMEH Z, *et al*. The effect of different desolvating agents on BSA nanoparticle properties and encapsulation of curcumin [J]. *J Nanopart Res*, 2014, 16: 1–14.
- [14] ROMERO CM, LOZANO JM, SANCHO J, *et al*. Thermal stability of  $\beta$ -lactoglobulin in the presence of aqueous solution of alcohols and polyols [J]. *Int J Biol Macromol*, 2007, 40(5): 423–428.
- [15] SINDHU A, MOGHA NK, VENKATESU P. Insight into impact of choline-based ionic liquids on bovine  $\beta$ -lactoglobulin structural analysis: Unexpected high thermal stability of protein [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 126: 1–10.
- [16] 张驰. 多酚与花生蛋白相互作用及其对花生蛋白致敏性的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2021.
- ZHANG C. Interaction of polyphenol with peanut protein and its effect on sensitization of peanut protein [D]. Chongqing: Southwest University, 2021.
- [17] WASEEM R, SHAMSI A, SHAHBAZ M, *et al*. Effect of pH on the structure and stability of irisin, a multifunctional protein: Multispectroscopic and molecular dynamics simulation approach [J]. *J Mol Struct*, 2022, 1252: 132141.
- [18] RAWEL HM, MEIDTNER K, KROLL J. Binding of selected phenolic compounds to proteins [J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(10): 4228–4235.
- [19] ENGSTRÖM MT, SUN XW, SUBER MP, *et al*. The oxidative activity of ellagitannins dictates their tendency to form highly stabilized complexes with bovine serum albumin at increased pH [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(47): 8994–9003.
- [20] WANG L, DONG J, LI R, *et al*. Elucidation of binding mechanism of dibutyl phthalate on bovine serum albumin by spectroscopic analysis and molecular docking method [J]. *Spectrochim Acta A*, 2020, 230: 118044.
- [21] TU B, WANG Y, MI R, *et al*. Evaluation of the interaction between naringenin and human serum albumin: Insights from fluorescence spectroscopy, electrochemical measurement and molecular docking [J]. *Spectrochim Acta A*, 2015, 149: 536–543.
- [22] CHAI WM, OUYC, HUANG Q, *et al*. Antityrosinase and antioxidant properties of mung bean seed proanthocyanidins: Novel insights into the inhibitory mechanism [J]. *Food Chem*, 2018, 260: 27–36.
- [23] LI XG, HAO YB. Probing the binding of (+)-catechin to bovine serum albumin by isothermal titration calorimetry and spectroscopic techniques [J]. *J Mol Struct*, 2015, 1091: 109–117.
- [24] WANG R, HU X, PAN JH, *et al*. Interaction between quinoline yellow and human serum albumin: Spectroscopic, chemometric and molecular docking studies [J]. *J Sci Food Agric*, 2019, 99(1): 73–82.
- [25] ALBRECHT C, JOSEPH R, LAKOWICZ. Principles of fluorescence spectroscopy, 3rd edition [J]. *Anal Bioanal Chem Anal Bioanal Chem*, 2008, 390(5): 1223–1224.
- [26] ALI MS, WASEEM M, SUBBARAO N, *et al*. Dynamic interaction between lysozyme and ceftazidime: Experimental and molecular simulation approaches [J]. *J Mol Liq*, 2021, 328: 115412.
- [27] CHI ZX, HONG BW, REN XL, *et al*. Investigation on the conformational changes of bovine serum albumin in a wide pH range from 2 to 12 [J]. *Spectrosc Lett*, 2018, 51(6): 279–286.
- [28] QI X, XU DX, ZHU JJ, *et al*. Studying the interaction mechanism between bovine serum albumin and lutein dipalmitate: Multi-spectroscopic and molecular docking techniques [J]. *Food Hydrocolloid*,

- 2021, 113: 106513.
- [29] GHISAIDOOBE ABT, CHUNG SJ. Intrinsic tryptophan fluorescence in the detection and analysis of proteins: A focus on Förster resonance energy transfer techniques [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(12): 22518–22538.
- [30] 张阳洋, 范金波, 麻奥, 等. 分子模拟结合荧光光谱法探究 BSA-多酚复合物形成机理及对多酚的保护作用[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(8): 298–308.
- ZHANG YY, FAN JB, MA AO, *et al.* The formation mechanism of bSA-polyphenol complexes and its protective effect of polyphenols by molecular simulation combined with fluorescence spectroscopy [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2021, 21(8): 298–308.
- [31] SIDDIQUI GA, SIDDIQI MK, KHAN RH, *et al.* Probing the binding of phenolic aldehyde vanillin with bovine serum albumin: Evidence from spectroscopic and docking approach [J]. *Spectrochim Acta A*, 2018, 203: 40–47.
- [32] 范金波, 周素珍, 闫泳, 等. 分子对接结合荧光光谱法探究单宁酸与血清蛋白结合的 pH 依赖性[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(10): 23–33.
- FAN JB, ZHOU SZ, YAN Y, *et al.* pH dependence of binding of tannic acid to serum protein by molecular docking and fluorescence spectroscopy [J]. *J Chin Inst Food Sci Technol*, 2021, 21(10): 23–33.
- [33] GOLIANOVÁ K, HAVADEJ S, VEREBOVÁ V, *et al.* Interaction of conazole pesticides epoxiconazole and prothioconazole with human and bovine serum albumin studied using spectroscopic methods and molecular modeling [J]. *Int J Mol Sci Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 1925.
- [34] 范金波, 安佳鑫, 麻奥, 等. 荧光光谱法结合分子对接探究咖啡酸与牛血清白蛋白相互作用机制[J]. *包装与食品机械*, 2020, 38(5): 6–12.
- FAN JB, AN JX, MA A, *et al.* Study on the interaction mechanism between caffeic acid and bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy combined with molecular docking [J]. *Packag Food Mach*, 2020, 38(5): 6–12.

(责任编辑: 郑丽于梦娇)

### 作者简介



闫 焕, 主要研究方向为食品质量与安全。

E-mail: 1541777431@qq.com



范金波, 博士, 副教授, 主要研究方向为果蔬加工及分子营养。

E-mail: jinbo\_fan@hotmail.com