

# 聚肌胞存在下利培酮与牛血清白蛋白的相互作用及金属离子的影响

刘里, 杨晓丽

**摘要** 目的 研究在聚肌胞(Poly I:C)存在下利培酮(RI)和牛血清白蛋白(BSA)的相互作用及共存金属离子( $Mn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Cr^{3+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Co^{3+}$ )对Poly I:C和RI与BSA的相互作用的影响。方法 采用紫外-可见吸收光谱和荧光光谱法来分析两种药物与蛋白相互作用的猝灭类型和机制。Hill曲线用于研究联合用药时的协同作用。用Stern-Volmer方程及其修正方程计算出猝灭常数、猝灭速率常数、结合常数和结合位点数。通过Van't Hoff方程得出热力学参数并确定作用力类型。同步荧光法研究两种药物对蛋白构象的影响。结果 在Poly I:C存在下,RI对BSA的荧光有猝灭作用,其猝灭过程属于动态猝灭,两种药物和BSA之间的作用力类型主要以氢键和范德华力为主,结合位点主要位于亚螺旋域IIA。Poly I:C与RI分子之间几乎没有药物协同作用。Poly I:C-RI对BSA构象几乎不影响,结合位点更接近于色氨酸。结论 Poly I:C的加入对RI药效的增强起到了积极作用。常见金属离子会影响Poly I:C和RI与BSA的结合。该研究为Poly I:C和RI联合用药的临床研究提供科学依据。

**关键词** 聚肌胞; 利培酮; 相互作用; 牛血清白蛋白; 金属离子

中图分类号 O 657.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)05-0671-06  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.05.004

血清白蛋白(serum albumin, SA)是血浆中最丰富的载体蛋白。当药物通过血浆储存和运输到目标受体靶点时,就会发生药理作用。因此,作为药物载体的SA在药物对靶分子发挥功效过程中起到了十分重要的作用<sup>[1]</sup>。研究药物与SA之间的相互作用不仅对明确药物的转运具有重要意义,还对药物的代谢过程、药代动力学,以及药物的毒性也意义

非凡。然而研究一种药物与SA相互作用的报道较多,但两种药物与SA的相互作用却鲜有报道。实际上,人们大多数情况下都是联合用药,所以多种药物与SA相互作用的相关研究就尤为重要。利培酮(risperidone, RI)是用于治疗急性精神分裂症、双相情感障碍和与自闭症相关的易激性的常用药<sup>[2]</sup>。一种人工合成的双链核糖核酸-聚肌胞(polyinosinic-polycytidylic acid, Poly I:C)是一种干扰素诱导剂,由于其具有抗病毒并调节免疫的作用,用于治疗慢性乙型肝炎、流行性出血热、流行性乙型脑炎、病毒性角膜炎、带状疱疹、各种疣类和呼吸道感染等<sup>[3]</sup>。牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)与人血清白蛋白(human serum albumin, HSA)非常相似,具有76%的相同DNA序列,由于其价格便宜易得,常被用研究药物做血清白蛋白模型<sup>[1]</sup>。因此,现以BSA为血清白蛋白模型研究Poly I:C对RI与BSA的相互作用的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 荧光光谱测定

**1.1.1 猝灭机制的探讨实验** 荧光光谱的测定使用F-4600型荧光光谱仪(日本日立公司),并固定10.0 nm狭缝宽度,400 V的光电倍增管负高压。在10.0 ml比色管中,依次加入2.0 ml NaCl溶液(0.50 mol/L),1.0 ml Tris-HCl缓冲溶液(0.10 mol/L, pH=7.40,使用上海虹益仪器仪表有限公司pHS-3C型精密酸度计调节酸度),1.0 ml BSA溶液( $1.0 \times 10^{-5}$  mol/L,上海阿拉丁生物技术有限责任公司),0.5 ml Poly I:C(0.089 6 g/L,上海江莱化学科技有限公司,含量99%)和不同体积的RI溶液( $4.146 3 \times 10^{-7}$  mol/L)用超纯水定容。把配置好的溶液分别放到25.9 °C、35.9 °C和45.9 °C温度下的超级恒温水浴(DHG-9035 A型,上海一恒科技有限公司)内孵育30 min后,测定光谱曲线,并得到最大激发波长( $\lambda_{ex}$ )和最大发射波长( $\lambda_{em}$ ),并测定荧光强度值即 $F_0$ (无RI时体系的荧光强度)和 $F$ (不同浓度RI存在时体系的荧光强度)。绘制Stern-Volmer关

2019-11-29 接收

基金项目: 上海师范大学资源化学教育部重点实验室开放课题; 云南省教育厅科学研究基金项目(编号: 2015C090Y); 国家自然科学基金(编号: 21804079)

作者单位: 曲靖师范学院化学与环境科学学院, 曲靖 655011

作者简介: 刘里,女,博士,副教授,责任作者, E-mail: 18908746298@163.com

系曲线<sup>[41]</sup>(其方程表达式为  $F_0/F = 1 + K_{sv}C_{RI} = 1 + K_q\tau_0C_{RI}$ , 式中  $\tau_0$  是荧光寿命,  $K_q$  是速率常数;  $K_{sv}$  是猝灭常数;  $C_{RI}$  为 RI 浓度)。

**1.1.2 金属离子对体系影响的实验** 在 Poly I: C-RI-BSA 体系中分别加入  $1 \times 10^{-5}$  mol/L  $MgSO_4$ 、 $CoCl_2$ 、 $MnCl_2$ 、 $CuSO_4$  和  $CrCl_3$  之后, 然后在上述实验条件下, 把配置好的溶液在 25.9 °C 温度下反应 30 min 后, 在  $\lambda_{ex}$  下扫描光谱曲线并记录  $F_0$  (无金属离子加入时体系在  $\lambda_{em}$  处的荧光值) 和  $F$  值(金属离子加入时体系在  $\lambda_{em}$  处的荧光值)。

**1.1.3 同步荧光光谱的测定** 按照 1.1.1 方法配置溶液, 并在上述实验条件下, 固定  $\Delta\lambda = 15$  nm 和 60 nm 扫描荧光光谱曲线。

**1.2 紫外-可见光谱研究** 按照 1.2.1 方法配置溶液, 用 Cary 50 型紫外-可见光谱仪(美国瓦里安技术中国有限公司)扫描其随着 RI 浓度增加, 体系的吸收图谱。

**1.3 统计学处理** 用 SPSS 19.0 统计软件进行显著性分析, 采用 Excel 2013 软件进行处理数据, 测定 3 次取平均值。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 荧光发射光谱** 固定 Poly I: C 和 BSA 浓度不变, 改变 RI 浓度, 研究 RI 的存在对 Poly I: C-BSA 荧光发射光谱的影响, 见图 1。在 300 ~ 450 nm 范围内 RI 和 Poly I: C 本身无荧光发射, 对实验结果无干扰(图 1 中的 11 曲线所示)。Poly I: C-BSA 体系的  $\lambda_{em}$  在 345 nm 处(图 1 曲线所示), 而 RI 的加入对其  $\lambda_{em}$  几乎无影响, 只是荧光强度( $F$  值)明显随着

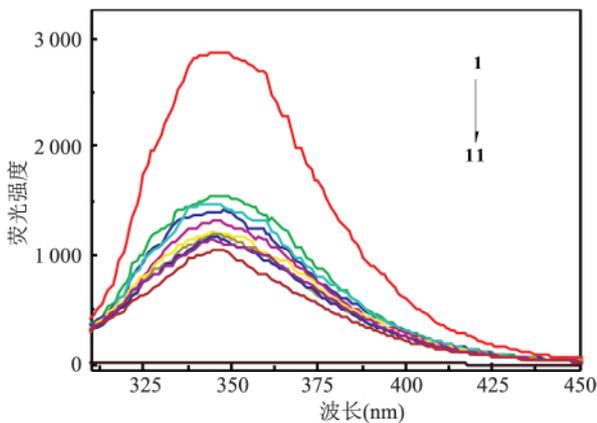


图 1 在不同 RI 浓度下 poly I: C-BSA 的荧光发射光谱

1→10:  $C_{BSA} = 1 \times 10^{-6}$  mol/L,  $C_{RI} = (0.0, 0.332, 0.415, 0.622, 1.037, 1.202, 1.368, 1.576, 1.783, 1.990) \times 10^{-7}$  mol/L; 11:  $C_{RI} = 3.32 \times 10^{-8}$  mol/L,  $C_{poly I: C} = 0.00448$  g/L

RI 浓度的增加而逐渐减弱。表明在 poly I: C 存在下 RI 对 BSA 有显著的抑制作用。

**2.2 猝灭荧光机制探究** 为了探讨这两种药物对 BSA 的机制, 选用最经典的 Stern-Volmer 关系曲线来研究其荧光猝灭机制。按照 1.2.1 方法测定试液的  $F_0$  和  $F$ , 以  $F_0/F$  为纵坐标,  $C_{RI}$  为横坐标见图 2。三个温度的线性方程列入表 1 中, 对比由表 1 中三个线性方程的斜率即  $K_{sv}$  值可知, 温度越高, 直线斜率越大, 表明 RI 和 poly I: C 对 BSA 荧光的猝灭符合动态猝灭机制。

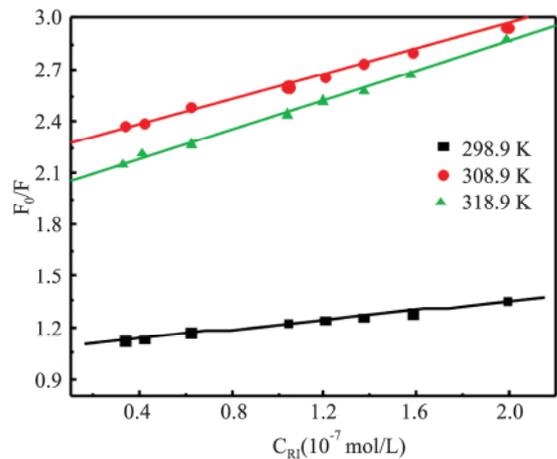


图 2 poly I: C-RI-BSA 的 Stern-Volmer 关系曲线

表 1 poly I: C-RI-BSA 和的 Stern-Volmer 方程

温度(°C)	Stern-Volmer 方程	相关系数 r	$K_{sv}$ (mol/L)	$K_q$ [L/(mol·s)]
25.9	$F_0/F = 1.5 \times 10^6 [C] + 1.0831$	0.9970	$1.5 \times 10^6$	$1.5 \times 10^{14}$
35.9	$F_0/F = 3.5 \times 10^6 [C] + 2.2587$	0.9991	$3.5 \times 10^6$	$3.5 \times 10^{14}$
45.9	$F_0/F = 4.2 \times 10^6 [C] + 2.0095$	0.9984	$4.2 \times 10^6$	$4.2 \times 10^{14}$

采用不受离子强度影响的紫外-可见光谱来研究 poly I: C-RI-BSA 荧光抑制机制, 其吸收光谱图(图 3)。对比图 3 中曲线 1 (poly I: C-BSA 体系) 和曲线 2-10 (固定 Poly I: C 和 BSA 的浓度, 逐渐增大 RI 的浓度即 RI-poly I: C-BSA 体系) 可知, 伴随着 RI 浓度的增加, 虽然 poly I: C-BSA 体系的吸收强度增加, 但其紫外光谱曲线的峰形与峰位没有发生改变。此实验结果表明其完全没有如静态猝灭机制那样, 由于有新物质的生成, 而改变紫外谱线。

**2.3 结合位点数及结合常数的测定** 应用  $\lg [(F_0 - F) / F] = \lg K_b + n \lg [C]$  方程计算测定在 poly I: C 存在条件下, 药物小分子 RI 与 BSA 生物大分子的结合常数( $K_b$ ) 与每一个 BSA 与药物结合的位点数( $n$ )。分别在 25.9 °C、35.9 °C 和 45.9 °C 温度条件下测定不断加入 RI 后, 体系的荧光强度, 然后以

表2  $K_b$  和  $n$  的值

体系	温度(°C)	双对数方程	$K_b$ (L/mol)	$n$	$r$
RI-BSA <sup>[2]</sup>	25.9	$\lg [(F_0 - F) / F] = 0.5884 \lg [C] + 3.688$	$4.817 \times 10^3$	0.588 4	0.999 3
	35.9	$\lg [(F_0 - F) / F] = 0.592 2 \lg [C] + 3.976$	$9.367 \times 10^3$	0.592 2	0.999 6
	45.9	$\lg [(F_0 - F) / F] = 0.675 5 \lg [C] + 4.172$	$1.497 \times 10^4$	0.675 5	0.994 2
poly I: C-RI-BSA	25.9	$\lg [(F_0 - F) / F] = 0.555 3 \lg [C] + 3.236$	$1.723 \times 10^3$	0.555 3	0.998 9
	35.9	$\lg [(F_0 - F) / F] = 0.189 1 \lg [C] + 1.536$	34.00	0.189 1	0.997 0
	45.9	$\lg [(F_0 - F) / F] = 0.242 4 \lg [C] + 1.861$	72.00	0.242 4	0.990 2

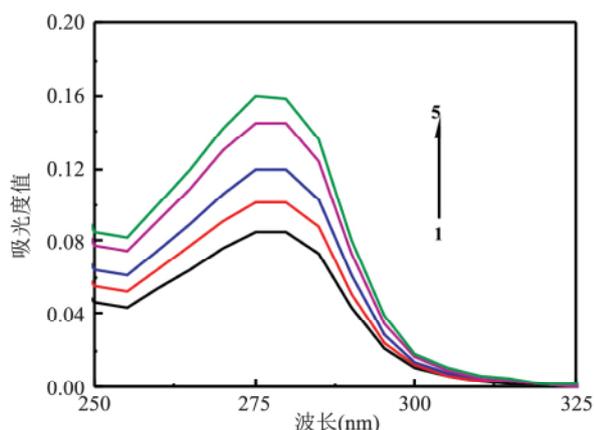


图3 poly I: C-BSA (1) 和 poly I: C-RI-BSA (2-5) 紫外吸收光谱  
1→5:  $C_{BSA} = 1 \times 10^{-6}$  mol/L,  $C_{poly I: C} = 0.004 48$  g/L,  $C_{RI} = (0, 1.368, 1.576, 1.783, 1.990) \times 10^{-7}$  mol/L

$\lg [C]$  为横坐标,  $\lg (F_0 - F) / F$  为纵坐标做双对数曲线(图4所示)得到的双对数方程列于表2中。表2中  $K_b$  和  $n$  变化较大,表明  $K_b$  和  $n$  对温度很敏感,即蛋白质对药物的运输受温度的影响较大。当温度在 25.9 °C 时  $K_b$  和  $n$  达到最大值  $n$  约等于 1,可形成 1 个结合位点;当温度高于 298.9 K 时  $n$  很小,几乎不可以形成 1 个结合位点。总之,温度增加不利于蛋白质运载药物。而对比三个温度的  $K_b$  值,我们发现,室温下(25.9 °C)的  $K_b$  值比分别是 35.9 °C 和 45.9 °C 温

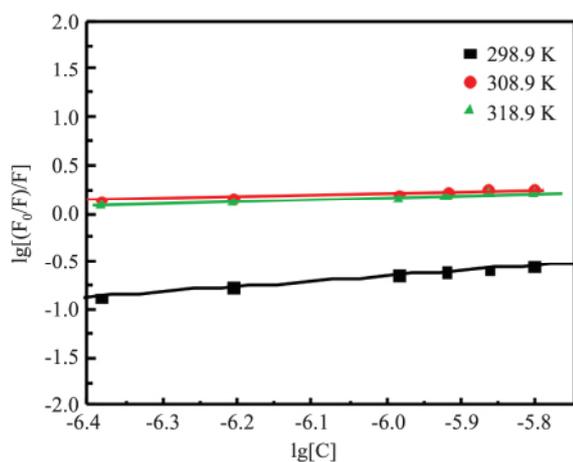


图4 双对数曲线

度下的  $K_b$  值的 50 倍和 24 倍。这也印证了高于室温时,温度越高对药物与蛋白的结合越不利。

2.4 相互作用力 BSA 与 poly I: C 和 RI 两种药物相互作用的热力学函数通过 van't Hoff 方程求得。其方程表达式为:

$$\ln K_b = (-\Delta H/RT) + \Delta S/R \quad (1)$$

$$\Delta G = -RT \ln K_b = \Delta H - T\Delta S \quad (2)$$

公式中  $K_b$  为不同温度下的结合常数,  $R$  是摩尔气体常数,其数值为  $8.314$  J/(mol·K),  $T$  为热力学温度,  $\Delta G$ 、 $\Delta H$  和  $\Delta S$  分别代表吉布斯自由能变、焓变和熵变。根据公式(1)和(2)计算  $\Delta G$ 、 $\Delta H$  和  $\Delta S$  结果列于表3中。 $\Delta G < 0$  表明聚肌胞和利培酮与 BSA 结合是自发反应,  $\Delta H < 0$  表明该结合反应属于放热反应。

表3 热力学函数

体系	温度 T(K)	自由能 $\Delta G$ (kJ/mol)	焓 $\Delta H$ (kJ/mol)	熵 $\Delta S$ [J/(mol·K)]
RI-BSA <sup>[2]</sup>	298.9	-21.07	183.1	683.1
	308.9	-23.49	183.1	668.8
	318.9	-25.49	183.1	654.1
poly I: C-RI-BSA	298.9	-18.32	-206.5	-636.3
	308.9	-8.99	-206.5	-646.0
	318.9	-11.25	-206.5	-618.4

2.5 结合部位的确定 BSA 分子由 3 个同源结构域组成即域(I~III),每个域相应地产生两个子域(IA、IB等)。BSA 中有两个特异性与配体结合的位点,即结合位点 I(在亚结构域 II A)以及 II(在亚结构域 III A 中)。药物分子作为配体与 BSA 结合的部位可以从相互过程中色氨酸残基和酪氨酸残基的实际参与情况推断出。首先分别在  $\lambda_{ex} = 280$  nm/295 nm 激发时扫描体系的发射光谱,然后由  $\lambda_{em}$  处的荧光值绘制荧光猝灭曲线(图5所示)。

2.6 药物协同性 通过 Hill 曲线(其曲线方程为  $\lg H/(1-H) = \lg K + n_H \lg [C]$ ,式中  $H$  为结合饱和分数,  $K$  为结合常数,  $n_H$  为 Hill 系数,  $[C]$  为药物的浓度)来推断聚肌胞和利培酮的药物协同性。首先利

用  $F$  和  $F_0$  的值计算出  $B = (F_0 - F) / F_0$ , 以  $1/[C]$  为横坐标,  $1/B$  为纵坐标做线性图,  $1/B_m$  为直线的截距, 从而能算成  $B_m$  值。然后在计算出  $H/(1-H)$  值, 其值等于  $B/(B_m - B)$ , 最后求出 Hill 方程, 结果见表 4。由表 4 中实验结果显示, 温度改变时,  $n_H$  值变动不大, 表明温度对药物协同性的影响不明显。温度的提升会增加  $n_H$  值, 这与上述描述的动态猝灭机制相吻合。

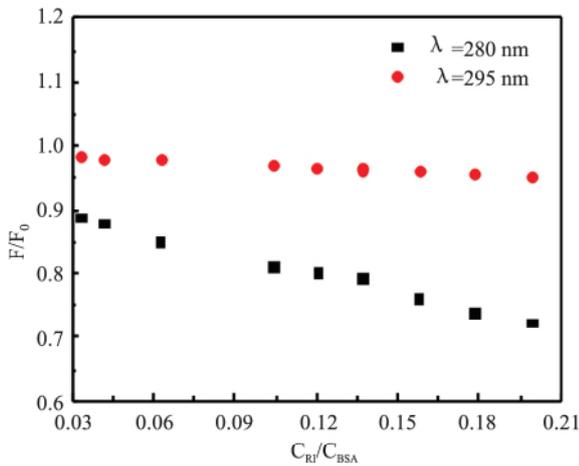


图 5  $F/F_0$  与  $C_{RI}/C_{BSA}$  关系曲线

表 4 不同温度下的  $n_H$  值

体系	温度(°C)	$n_H$	相关系数 r
RI-BSA <sup>[2]</sup>	25.9	0.965 5	0.995 5
	35.9	1.066 5	0.993 1
	45.9	1.086 2	0.984 3
poly I: C-RI-BSA	25.9	0.904 9	0.999 8
	35.9	1.020 2	0.996 7
	45.9	1.029 6	0.993 8

### 2.7 聚肌胞和利培酮对血清白蛋白构象的影响

当波长间隔 ( $\Delta\lambda$ ) 固定在 15 nm 或 60 nm 处时, 同步荧光能分别给出酪氨酸残基 (Tyr) 和色氨酸残基 (Trp) 的特征信息。聚肌胞和利培酮对 BSA 的同步荧光光谱的影响如由图 6 所示。当增大药物浓度时  $F$  值逐渐降低, 酪氨酸残基的  $\lambda_{em}$  向短波移动约 2 nm, 色氨酸残基的  $\lambda_{em}$  向长波移动约 4 nm, 表明聚肌胞和利培酮药物的加入几乎不改变了 Tyr 和 Trp 所处的微环境。

**2.8 金属离子的影响** 常见离子广泛分布于人体或动物血液中。因此, 应该考虑有很多血液系统和生物体中的对结合蛋白质有特定能力的微量金属离子。因此, 一些常见金属离子 (如  $Mg^{2+}$ 、 $Co^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  和  $Cr^{3+}$ ) 作为研究对象, 来探究其对药物与 BSA 结合的影响 (表 5)。由表 5 可知, 金属离子

不同,  $K_b$  和  $n$  差别较大, 由于原子结构决定性质, 才会使结合参数值改变很大。 $Cu^{2+}$ 、 $Cr^{3+}$  和  $Mn^{2+}$  的存在, 增大了  $K_b$  和  $n$  值, 这表明金属离子促进了药物与蛋白质的结合作用。其中  $Cr^{3+}$  的存在最大程度地影响药物与蛋白的相互作用。然而  $Co^{2+}$  和  $Mg^{2+}$  的存在减小了原本的  $K_b$  和  $n$  值, 说明  $Co^{2+}$  和  $Mg^{2+}$  对聚肌胞和利培酮与 BSA 结合产生了竞争作用。它们能阻碍了药物与 BSA 的结合作用, 缩短了聚肌胞和利培酮在血液中的停留时间, 从而使药效得到增强。

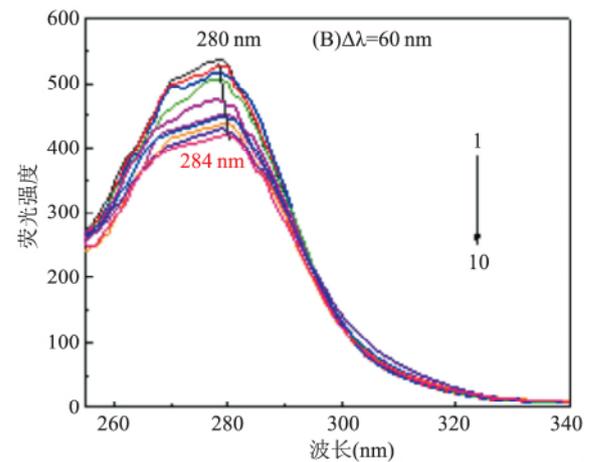
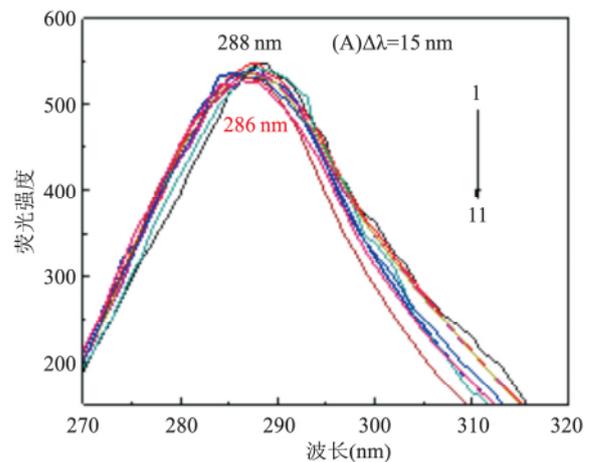


图 6 同步荧光光谱图

1→10:  $C_{BSA} = 1 \times 10^{-6}$  mol/L,  $C_{Poly I: C} = 0.00448$  g/L,  $C_{RI} = (0, 0.332, 0.415, 0.622, 1.037, 1.202, 1.368, 1.576, 1.783, 1.990) \times 10^{-7}$  mol/L

### 3 讨论

本研究小组已经报道 RI 和 poly I: C 都能猝灭 BSA 发生的荧光<sup>[2-3]</sup>, 而上述结果进一步表明 RI 和 poly I: C 能同时猝灭 BSA 的荧光, RI 能抑制 poly I: C-BSA 体系的荧光强度, 为探讨 poly I: C 存在下 RI

表5 金属离子对药物与 BSA 结合常数的影响

系列	金属离子	$K_b'$ (L/mol)	$K_b'/K_b$	结合位点 $n$	相关系数 $r$
RI-BSA <sup>[2]</sup>	*	$4.817 \times 10^3$	1.000	0.588 4	0.999 3
	Mg <sup>2+</sup>	$4.678 \times 10^6$	$9.712 \times 10^2$	1.058 0	0.980 6
	Co <sup>2+</sup>	$1.413 \times 10^2$	0.0290	0.421 2	0.987 4
	Cu <sup>2+</sup>	$1.473 \times 10^5$	30.580	0.848 4	0.996 8
	Cr <sup>3+</sup>	$1.403 \times 10^5$	29.110	0.853 2	0.981 1
	Mn <sup>2+</sup>	$3.516 \times 10^6$	$7.298 \times 10^2$	1.010 0	0.993 6
poly I: C-RI-BSA	*	$7.640 \times 10^2$	1.000	0.555 3	0.999 3
	Mg <sup>2+</sup>	$3.866 \times 10^2$	0.506	0.530 6	0.991 4
	Co <sup>2+</sup>	$2.470 \times 10$	0.032	0.339 5	0.990 5
	Cu <sup>2+</sup>	$3.830 \times 10^6$	$4.056 \times 10^4$	1.261 0	0.997 8
	Cr <sup>3+</sup>	$1.052 \times 10^7$	$1.376 \times 10^4$	1.238 0	0.998 0
	Mn <sup>2+</sup>	1.526	1.998	0.588 4	0.998 1

$K_b$  和  $K_b'$  分别表示在金属离子不存在和存在时聚肌胞和利培酮与 BSA 的结合常数 “\*” 代表无任何金属离子情况

对 BSA 抑制机制提供了研究前提条件。表 1 中三个  $K_q$  都大于最大动态猝灭速率常数  $2.0 \times 10^{10}$  L/(mol·s) 值<sup>[4]</sup>, 上述实验结果似乎有悖于动态猝灭机制的结合。有文献<sup>[4]</sup>报道离子强度会增大  $K_q$  值, 为了模拟人体的生理条件, 我们体系的 NaCl 浓度较高(0.1 mol/L), 故导致其  $K_q$  值超过了其极值。这就需通过其它方法进一步确定其猝灭机制。紫外光谱这充分印证了药物只改变 BSA 的激发态, 不影响紫外吸收光谱发生动态猝灭的结果<sup>[4]</sup>。综上所述, poly I: C-RI-BSA 体系的作用机制为动态猝灭, 与无 poly I: C 存在条件下, RI 对 BSA 的猝灭机制<sup>[2]</sup> 相同。

为了对比单一药物与两种药物同时与蛋白结合的作用, 我们同时对比了相应的  $n$  和  $K_b$  值。当只有一种药物 RI 与 BSA 相作用时  $n$  随着温度的升高而增大, 跟室温下 poly I: C 和 RI 同时与 BSA 相互作用时的  $n$  值相差不大。但高于室温后, 两种药物与 BSA 结合的  $n$  值就明显较小, 反而不能形成结合位点。这表明 poly I: C 加入使 RI-BSA 体系结合位点减少, 不利于药物在血液中的运输。对比表 3 中  $K_b$  (RI-BSA)<sup>[2]</sup> 和  $K_b$  (poly I: C-RI-BSA) 值, 我们发现在室温时  $K_b$  (RI-BSA) 值为  $K_b$  (poly I: C-RI-BSA) 的 2.8 倍; 当温度升高 10 °C 后  $K_b$  (RI-BSA) 值是  $K_b$  (poly I: C-RI-BSA) 的 2 800 倍; 当温度升高 20 °C 时  $K_b$  (RI-BSA) 值是  $K_b$  (poly I: C-RI-BSA) 的 2 100 倍。以上实验数据表明聚肌胞的加入使体系的稳定性减弱, 推测由于 Poly I: C 与 RI 发生了相互作用, 导致  $K_b$  减小, 从而缩短了药物停留时间, 增大血液中的药物浓度, 对药效产生有益影响。

根据  $\Delta H$  和  $\Delta S$  值的正负情况, 利用 Ross et al<sup>[5]</sup> 总结出的药物与大分子相互作用的模型可以推断出其分子间作用力类型。 $\Delta H < 0$  且  $\Delta S < 0$  表明在聚肌胞存在下, 利培酮与 BSA 直接的作用力以氢键和范德华力为主。这与只有利培酮存在时, 与 BSA 的作用力(疏水作用力)<sup>[2]</sup> 类型不同, 推测其原因为在聚肌胞与利培酮同时存在时, 改变其与 BSA 的分子间的力的类型。由图 5 可知, 两种激发波长下, Poly I: C-RI-BSA 体系的猝灭曲线是独立的两条曲线没有相交和重叠的区域, 而且  $F/F_0$  值在  $\lambda_{ex} = 280\text{nm}$  时比  $\lambda_{ex} = 295\text{nm}$  激发时的高, 这表明在色氨酸和酪氨酸残基都参与利培酮和聚肌胞与 BSA 的相互作用<sup>[6-8]</sup>, II A 是结合部位, 这与只有利培酮存在下和 BSA 结合的部位相同<sup>[2]</sup>。三个温度下的  $n_H$  均接近 1, 说明聚肌胞和利培酮与 BSA 结合过程中, 聚肌胞和利培酮与 BSA 分子之间几乎没有协同作用。由表 4 可知:  $n_H$  (RI-BSA)<sup>[2]</sup>  $<$   $n_H$  (poly I: C-RI-BSA) 即聚肌胞的存在增强了药物之间的协同性。

聚肌胞和利培酮使 BSA 伸展, 减少了氨基酸残基间的能量传递, 从而猝灭 BSA 荧光<sup>[9]</sup>, 色氨酸的猝灭程度大于酪氨酸, 表明聚肌胞和利培酮与 BSA 的结合位点更加接近于色氨酸残基, 这与利培酮对 BSA 构象影响相同。Cu<sup>2+</sup>、Co<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 和 Mn<sup>2+</sup> 存在时,  $K_b'$  (poly I: C-RI-BSA)  $<$   $K_b'$  (RI-BSA)<sup>[2]</sup>, 表明 Poly I: C 的加入使 RI 药效增强; 而 Cr<sup>3+</sup> 的情况正好相反, 表明 Poly I: C 的加入减弱 RI 的药效。以上结果再次说明 Poly I: C 与 RI 存在相互作用。

综上所述, 聚肌胞和利培酮同时存在时与 BSA 之间的猝灭机制为动态猝灭机制。氢键和范德华力起了主要作用, 聚肌胞和利培酮分子之间几乎没有协同性, 三元体系结合位置位于 BSA 的亚螺旋域 II A 中。poly I: C-RI 对 BSA 的构象产生很小的影响。此外, 在常见金属的存在时会影响聚肌胞和利培酮与 BSA 的结合。Poly I: C 的加入对 RI 药效的增强起到了有益作用。这些研究对今后联合用药的临床指导提供重要参考价值。

## 参考文献

- [1] Zhang X, Lin Y, Liu L, et al. Study on the synthesis of sulfonamide derivatives and their interaction with bovine serum albumin [J]. Luminescence, 2015, 30(3): 269-79.
- [2] 刘里, 杨华灵, 成飞翔, 等. 光谱法研究利培酮与牛血清白蛋白的相互作用及共存金属离子的影响 [J]. 河北师范大学学报(自然科学版), 2016, 40(4): 320-5.

- [3] 刘 里,成飞翔. 光谱法研究聚肌胞与牛血清白蛋白的相互作用及共存金属离子的影响[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2016, 38(3): 114-8.
- [4] Lakowicz J R. Principles of fluorescence spectroscopy [M]. 3rd Edition. New York: Springer Press, 2006: 356-482.
- [5] Ross D P, Subramantan S. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability [J]. *Biochemistry*, 1981, 20(11): 3096-102.
- [6] 刘 里,李艳芳,成飞翔. 光谱法研究头孢西钠与牛血清白蛋白的相互作用[J]. 安徽医科大学学报, 2017, 52(1): 52-6.
- [7] 董 哲,李 阳,谢立娟,等. 阿托伐他汀与人血清白蛋白相互作用机制的研究[J]. 安徽医科大学学报, 2018, 53(10): 1543-6, 1636.
- [8] Bojko B, Sułkowska A, Maciążek-Jurczyk M, et al. The influence of dietary habits and pathological conditions on the binding of theophylline to bovine serum albumin [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2010, 52(3): 384-90.
- [9] Jelic R M, Stojanovic S D, Beric J D, et al. The effect of tigecycline on the binding of fluoroquinolones to human serum albumin [J]. *Ser J Exp Clin Res* 2018, 19(1): 17-25.

## The interaction of risperidone with bovine serum albumin in presence of polyinosinic-polycytidylic acid and the effect of metal ions on the reaction

Liu Li, Yang Xiaoli

( College of Chemistry and Environmental Science, Qujing Normal University, Qujing, Yunnan 655011)

**Abstract Objective** To explore the interaction between risperidone (RI) and bovine serum albumin (BSA) on the presence of polyinosinic-polycytidylic acid (Poly I: C), and the effects of metal ions ( $Mn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Co^{3+}$ ) on the interaction. **Methods** The interaction of quenching type and mechanism were determined using UV-visible absorption spectroscopy and fluorescence spectroscopy. Hill curve was used to study the synergistic effect of drug combination. The values of the quenching constant, quenching rate constant, the binding constant and the number of binding sites were calculated according to the Stern-Volmer equation and its modified equation. Thermodynamic parameters and type of interactions were obtained by Van't Hoff equation. **Results** In presence of Poly I: C, the fluorescence of BSA was quenched by Poly I: C and RI, which was a dynamic quenching process. The interaction of RI and BSA with Poly I: C was mainly driven by hydrogen bond and Vander Waals force. Location of the primary binding site for Poly I: C and RI was on the sub-domain II A of BSA. When Poly I: C and RI bound to BSA simultaneously, the values of Hill's coefficients were close to one, which indicated that there was no cooperative effect. The conjugation reaction between Poly I: C-RI and BSA would hardly impact on the BSA conformation, and the binding site was closer to tryptophan residue. **Conclusion** The addition of Poly I: C played a positive role in enhancing the efficacy of RI. The presence of common metals affected the binding of Poly I: C and RI to BSA. This work will provide scientific reference for their clinical application of RI and Poly I: C combined with medication.

**Key words** polyinosinic-polycytidylic acid; risperidone; interaction; bovine serum albumin; metal ions