

Study on the Fluorescence Spectra of Interactions between Serum and Chinese Medicine Produced in Daqing

Xinyue Zhao¹, Tianyi Gao², Lexin Wang^{3*}, Chang Wang³, Taifan Sun³, Xinyan Zhang³

¹Class 2016 Information and Computing Science, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing Heilongjiang

²Information Institute, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing Heilongjiang

³Science Institute, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing Heilongjiang

Email: 2296663178@qq.com, *wanglexin@126.com

Received: Oct. 17th, 2018; accepted: Oct. 31st, 2018; published: Nov. 9th, 2018

Abstract

The fluorescence spectra of serum interaction between Daqing *Saposhnikovia divaricata* and different biochemical indexes were studied by RF5301 fluorescence spectrophotometer. The results showed that the fluorescence of Daqing *Saposhnikovia divaricata* was mainly distributed in the region of 320~570 nm; the best excitation wavelength is at 310 nm; the fluorescence peak position is at 428 nm. The spectrum shape of serum remained unchanged after adding *Saposhnikovia divaricata*, but the range of luminescence is reduced (300~450 nm). The fluorescence quenching degree of the serum of Daqing *Saposhnikovia divaricata* against different biochemical indexes was different, and the fluorescence quenching effect of the normal and hyperlipemia serum was the strongest, while the hyperglycemia was weak. This study provides a certain reference value for the study of spectral characteristics of Chinese herbal medicine and serum.

Keywords

Daqing *Saposhnikovia divaricata*, Human Serum, Fluorescence Spectra, Interaction

大庆产中药与血清相互作用的荧光光谱研究

赵新月¹, 高天祎², 王乐新^{3*}, 王 畅³, 孙太凡³, 张欣艳³

¹黑龙江八一农垦大学, 信息与计算科学专业2016级, 黑龙江 大庆

²黑龙江八一农垦大学信息技术学院, 黑龙江 大庆

³黑龙江八一农垦大学理学院, 黑龙江 大庆

Email: 2296663178@qq.com, *wanglexin@126.com

*通讯作者。

文章引用: 赵新月, 高天祎, 王乐新, 王畅, 孙太凡, 张欣艳. 大庆产中药与血清相互作用的荧光光谱研究[J]. 药物化学, 2018, 6(4): 122-127. DOI: 10.12677/hjmce.2018.64016

收稿日期：2018年10月17日；录用日期：2018年10月31日；发布日期：2018年11月9日

摘要

利用RF5301荧光分光光度计研究了大庆产中药防风与不同生化指标的人体血清相互作用的荧光光谱。实验结果表明：大庆防风的荧光区域主要分布在320~570 nm，其最佳激发波长为310 nm，在428 nm处有荧光峰，荧光强度最大。血清在加入大庆防风后的荧光峰形状不发生改变，但荧光范围缩小(300~450 nm)。大庆防风对不同生化指标血清的荧光猝灭程度不同，其中对正常和高血脂血清荧光猝灭作用最强，对高血糖血清猝灭程度较弱。本研究为中草药与血清的光谱特性研究提供了一定的参考价值。

关键词

防风，血清，荧光光谱，相互作用

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

防风为伞形科植物防风[*Saposhnikovia divaricata*]的干燥根，用于感冒头痛、风湿痹痛、破伤风等症[1]。防风主产于黑龙江、吉林、辽宁、河北、内蒙古和山东等地。防风喜阳光充足、凉爽的气候条件，忌高温、雨涝及土壤过湿，较耐寒、耐旱。在风积沙土、草甸沙土和草原黑钙土种植主根发达，侧根少，皮部棕黄色，商品质量好[2]。我国最大的防风产区位于黑龙江省杜尔伯特蒙古族自治县的西部草原地区，无论是产量还是质量均名列全国首位[3]。防风中主要包括色原酮类、挥发油、香豆素类、有机酸、多糖类、甘露醇、木蜡酸以及多种微量元素等化合物[4]。具有解表祛风、胜湿、止痉的功效，用于治疗头疼感冒、风湿痹痛、风疹瘙痒、破伤风等[5] [6]。血液在人体中占有极其重要的地位，其状态的变化直接反映了人体的生理机能变化[7]。利用光谱技术研究药物小分子与生物组织的相互作用已经成为许多科学研究的热点，并且取得了一定成果[8] [9] [10]。但到目前为止，有关中药材防风和人体血清之间相互作用的研究还很少。因此开展对中药与血清之间的相互作用研究，有助于为临床实践提供一些有价值的参考数据。

2. 实验样品与方法

2.1. 实验样品与仪器

样品：黑龙江省大庆市杜尔伯特蒙古族自治县(天然产)防风；不同生化指标的人体血清(由校医院提供)，血清是由采取到的血样经离心机分离得到的正常血清(血糖 Glu: 4.9 mmol/L, 胆固醇 Chol: 2.83 mmol/L, 甘油三酯 TG: 1.61 mmol/L)、高血糖血清(Glu: 10.6 mmol/L, Chol: 3.4 mmol/L, TG: 1.06 mmol/L)、高血脂血清(Glu: 4.7 mmol/L, Chol: 3.48 mmol/L, TG: 4.24 mmol/L)。

仪器：RF-5301 荧光分光光度计(日本岛津)；电子天平。

2.2. 实验方法

1) 取清洁过表面的大庆产防风 5 g，研磨成粉后置于烧杯中，加入 100 ml 蒸馏水，加热煮沸 20 min，

冷却取上清液作为防风标准待测液。对离心分离得到的人体血清与蒸馏水按 1:40 比例稀释成浓度为 2.5% 的血清标准溶液。

2) 分别取 3 ml 正常血清、高血糖血清、高血脂血清的标准溶液置于比色皿中测量其荧光光谱。激发波长范围选取 240~310 nm, 接收范围设定为 280~500 nm, 每隔 10 nm 扫描一次。激发和发射狭缝宽均为 3 nm, 扫描速度: fast。

3) 分别取 5 ml 正常血清、高血糖血清、高血脂血清的血清标准溶液, 向其中滴入 1 ml 大庆防风待测液, 放置一定时间使二者充分反应。取 3 ml 置于比色皿中测量其荧光光谱, 激发波长设定为 290 nm, 接收范围设定为 280~500 nm。激发和发射狭缝宽均为 3 nm, 扫描速度: fast。

4) 把测得的光谱数据用软件进行数据处理, 分析其规律。

3. 实验结果与分析

3.1. 大庆产防风的荧光光谱

图 1(a)是大庆防风在 270~310 nm 激发波长范围内的荧光光谱。如图可见, 大庆防风能够产生较强的荧光, 且其荧光强度与激发光波长紧密相关。大庆防风的荧光区域主要分布在 320~570 nm, 在 428 nm 处有荧光峰, 且荧光强度最大。在该范围内, 大庆防风的荧光强度随着激发波长的增大而增强, 荧光峰型和荧光峰值位置不发生改变。其最佳激发波长为 310 nm, 峰值波长位于 428 nm 处。

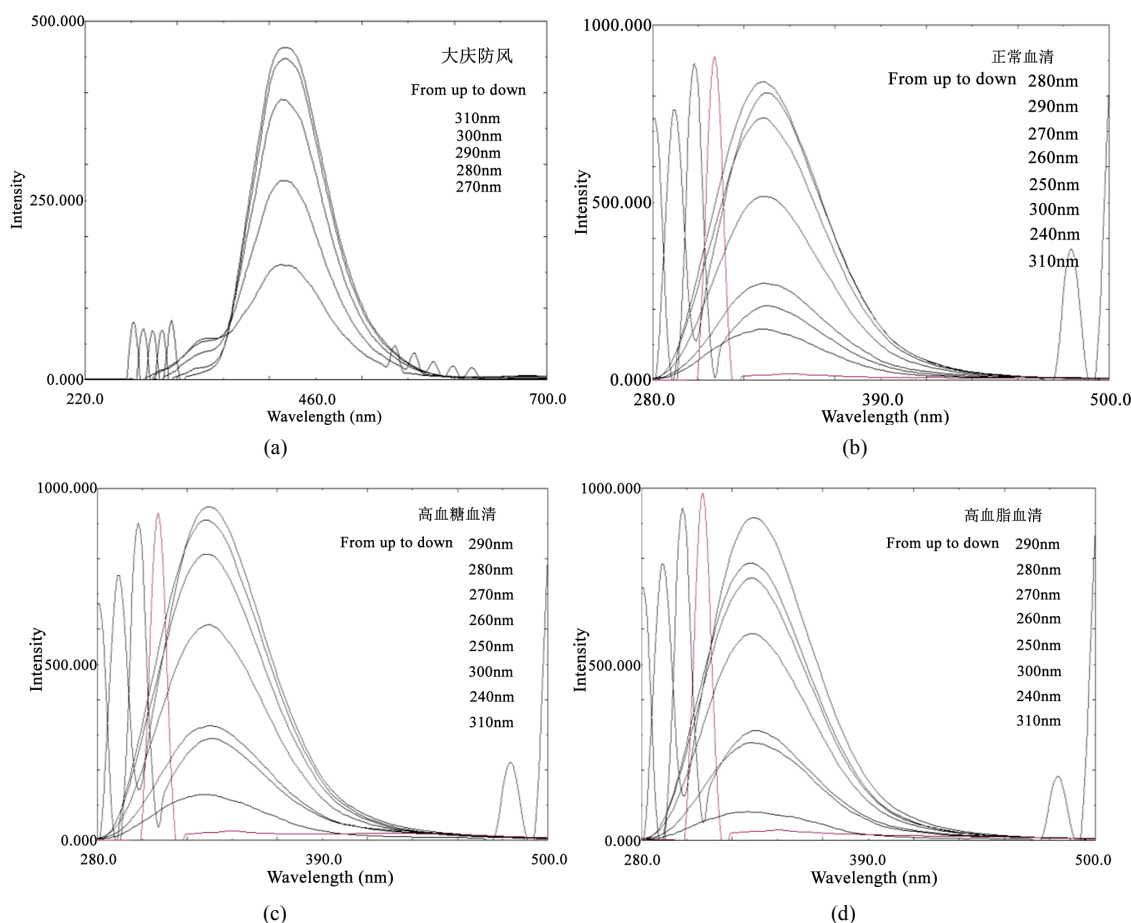


Figure 1. Fluorescence spectra of *Saposhnikovia divaricata* and different wavelength excitation serum in Daqing
图 1. 大庆产防风及不同波长激发血清的荧光光谱

3.2. 不同波长激发下血清的荧光光谱

图 1(b)为正常血清(Glu: 4.9 mmol/L, Chol: 2.83 mmol/L, TG: 1.61 mmol/L)的荧光光谱。可见, 当用 240~310 nm 的光激发正常血清时, 血清的荧光区域主要分布在 290~440 nm。激发波长在 240~280 nm 范围内, 随着激发波长的增大, 对应的荧光强度显著增强; 在 280~310 nm 范围内, 荧光强度随激发波长的增大而减弱。在 240~310 nm 范围内, 分别采用不同波长的激发光照射血清, 其中正常血清的最佳激发波长为 280 nm, 其对应的峰值波长为 333 nm。

图 1(c)为高血糖血清(Glu: 10.6 mmol/L, Chol: 3.4 mmol/L, TG: 1.06mmol/L)的荧光光谱。如图所示, 用 240~310 nm 的光激发高血糖血清, 高血糖血清的荧光区域主要分布在 290~490 nm, 与正常血清相比荧光区域较宽。激发波长在 240~290 nm 范围内, 随着激发波长的增大, 对应的荧光强度逐渐增大; 在 290~310 nm 范围内, 荧光强度随激发波长的增大而逐渐减小。高血糖血清的最佳激发波长为 290 nm, 其对应的峰值波长为 336 nm。

图 1(d)为高血脂血清(Glu: 4.7 mmol/L, Chol: 3.48 mmol/L, TG: 4.24 mmol/L)的荧光光谱。从图 1(d)可以看出, 当用 240~310 nm 的光激发高血脂血清时, 血清的荧光范围主要分布在 290~410 nm 的区域, 与正常血清相比荧光范围较窄。当激发波长在 240~290 nm 范围内时, 荧光强度随着激发波长的增大而均匀增强; 在 290~310 nm 范围内, 荧光强度随激发波长的增大而均匀减弱。高血脂血清的最佳激发波长为 290 nm, 其对应的峰值波长为 336 nm。

血清能产生很强的荧光, 其荧光强度与激发波长密切相关。正常人体血清的最佳激发波长为 280 nm, 对应的峰值波长为 333 nm; 高血糖和高血脂血清所对应的最佳激发波长和峰值波长相同, 其最佳激发波长为 290 nm, 对应的峰值波长为 336 nm。不同波长的光激发血清所产生的荧光光谱的谱型及分布范围基本相同, 但荧光峰强度随激发波长的增大出现先增强后减弱, 且荧光峰出现红移。

血液的成分十分复杂, 存在着许多可以发射荧光的基团, 如血红蛋白、芳香氨基酸(色氨酸、酪氨酸等)、各种酶、维生素、金属离子及 DNA 分子等[11]。生物大分子是由数千个原子组成, 因此具有复杂的能级结构, 能级数目也非常多, 极易受到外界因素影响[12]。不同波长的光激励下, 血清产生的荧光光谱谱型十分接近, 与激发光波长无关, 但荧光峰略有红移, 荧光强度也随激发光波长的变化而变化。

3.3. 大庆防风与血清相互作用的荧光光谱

在不同指标血清中分别加入大庆防风水溶液, 文中选取 290 nm 的光激发大庆产防风与不同生化指标血清相互作用的荧光光谱, 如图 2 所示。当大庆防风与正常血清(Glu: 4.9 mmol/L, Chol: 2.83 mmol/L,

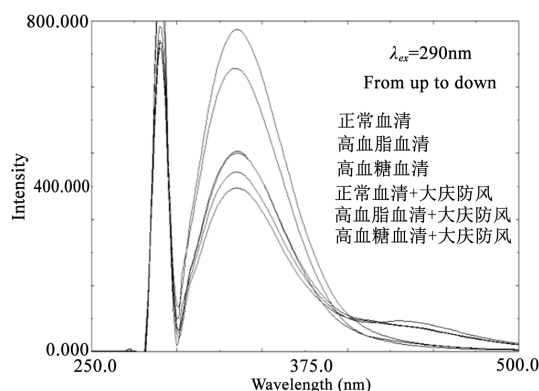


Figure 2. Fluorescence study on the interaction between *Saposhnikovia divaricata* and different biochemical indexes serum in Daqing

图 2. 大庆防风与不同生化指标血清相互作用的荧光光谱

TG: 1.61 mmol/L)相互作用后仍可以激发出荧光, 荧光范围 300~420 nm, 相较于正常血清的发光范围缩短, 血清作用的荧光强度显著降低。当用 290 nm 的光激发血清时, 正常血清的荧光峰值位于 335 nm, 在向其中加入 1 ml 大庆防风水溶液后, 血清的荧光峰位置不变, 但荧光强度明显减弱。

当大庆防风与高血糖血(Glu: 10.6 mmol/L, Chol: 3.4 mmol/L, TG: 1.06 mmol/L)相互作用时, 高血糖血清与大庆防风作用后的荧光范围在 290~410 nm, 相较于高血糖血清的荧光范围缩短, 血清的荧光强度降低。当用 290 nm 的光激发血清时, 高血糖血清的荧光峰值位于 336 nm, 在加入大庆防风后, 荧光强度减弱, 荧光峰位置不变。

当大庆防风与高血脂血清(Glu: 4.7 mmol/L, Chol: 3.48 mmol/L, TG: 4.24 mmol/L)相互作用时, 高脂血清与防风作用后的荧光范围相较高血脂血清的荧光范围缩短。当用 290 nm 的光激发血清时, 高脂血清的荧光峰值位于 336 nm, 加入大庆防风后荧光范围在 300~410 nm, 荧光强度减弱。

由表 1 可知, 大庆防风对正常和高血脂血清的猝灭程度较大, 分析其原因可能是血清中的少量游离脂肪酸或脂溶性维生素与防风主要发光物质分子之间发生了作用, 形成新的化合物, 使血清的荧光强度降低。此外, 当甘油三酯的浓度较高时, 血清分子之间存在碰撞致使能量转移或重吸收能量转移, 会引起荧光猝灭或者产生新荧光, 对荧光峰值位置和强度也有影响。

Table 1. The fluorescence quenching degree of the serum of Daqing *Saposhnikovia divaricata* against different biochemical indexes

表 1. 大庆防风对不同的生化指标血清的荧光猝灭程度

	荧光强度		荧光强度		荧光强度
正常血清	791	高血糖血清	485	高血脂血清	685
加入大庆防风	480	加入大庆防风	369	加入大庆防风	434
荧光强度差值	311	荧光强度差值	89	荧光强度差值	251

血清在与防风相互作用后荧光强度显著降低, 表明血清中的发光物质分子(如血糖中的葡萄糖、血清蛋白等)与防风中的主要发光物质分子之间发生了导致荧光强度减弱的物理或化学作用, 猜测是防风和血清中荧光物质分子的激发态分子之间的相互作用, 也可能是防风与血清中荧光物质的基态分子之间的相互作用导致的[13]。

4. 结论

通过荧光光谱对大庆产防风与人体血清相互作用的光谱特性进行了研究, 实验得到以下结论:

1) 大庆防风的荧光区域主要分布在 320~570 nm, 最佳激发波长为 310 nm, 峰形波长在 428 nm, 此时荧光强度最大。在 290~310 nm 范围内, 大庆防风的荧光强度随着激发波长的增大而增强, 荧光光谱型和荧光峰值位置不发生改变。

2) 人体血清自身能产生很强的荧光, 其荧光强度与激发光波长紧密相关。不同激发波长下血清产生的荧光光谱的荧光分布范围、形状相近, 但其荧光峰强度随激发波长变化而变化。在激发波长相同的条件下, 不同生化指标的血清荧光光谱的谱型、荧光强度和峰值位置均出现了不同的光谱特征。

3) 在 290 nm 的激发波长下, 大庆防风与不同生化指标血清作用后的荧光分布范围和谱线形状不发生变化, 但大庆防风对血清荧光强度的猝灭程度不同, 猝灭程度依次为: 正常血清、高血脂血清、高血糖血清。

基金项目

黑龙江省自然科学基金资助项目(项目编号: F201427)黑龙江省大学生创新创业项目(项目编号:

201810223082)。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 北京化学工业出版社. 2005: 102.
- [2] 朱玉野. 防风抽蔓期激素变化规律的研究[D]: [硕士学位论文]. 长春: 吉林农业大学, 2007.
- [3] 王喜军, 孟祥才, 左军. 黑龙江省地道中药材龙胆、防风的种植基本情况调查[J]. 中医药信息, 2003, 20(2): 55-56.
- [4] 孙晶波. 防风药材化学成分及其与根际土壤中无机元素含量的相关性研究[D]: [博士学位论文]. 长春: 吉林农业大学, 2013.
- [5] 韩忠明, 王云贺, 林红梅, 等. 吉林不同生境防风夏季光合特性[J]. 生态学报. 2014, 34(17): 4874-4881.
- [6] 姜艳艳, 刘斌, 石任兵, 等. 防风化学成分的分离与结构鉴定[J]. 药学学报, 2007, 42(5): 505-510.
- [7] 王田虎. 药物与生物分子相互作用的光谱特性分析与研究[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京航空航天大学, 2011.
- [8] Kandagal, P.B., Ashoka, S., Seetharamappa, J., *et al.* (2006) Study of the Interaction of an Anticancer Drug with Human and Bovine Serum Albumin: Spectroscopic Approach. *Journal of Pharmaceutical and Bio-medical Analysis*, **41**, 393-399. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.11.037>
- [9] Gao, W.H., Li, N.N., Chen, Y.W., *et al.* (2010) Study of Interaction between Syringin and Human Serum Albumin by Multi-Spectroscopic Method and Atomic Force Microscopy. *Journal of Molecular Structure*, **983**, 133-140. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2010.08.042>
- [10] 曹团武, 周坤, 黄文兵, 等. 光谱法研究哈巴俄昔与人血清白蛋白的结合反应[J]. 分析化学, 2017, 45(5): 700-706.
- [11] 王乐新. 人体血样的光谱特征探索与研究[D]: [博士学位论文]. 南京: 南京航空航天大学, 2009.
- [12] 史训立, 张琳, 李路华. 中药八角茴香水浸液的荧光光谱[J]. 光谱实验室, 2013, 30(3): 1301-1304.
- [13] 高天祯. 中草药防风的光谱特性研究[D]: [硕士学位论文]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2017.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2331-8287, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: hjmce@hanspub.org