

白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素与 BSA 相互作用的荧光光谱法研究

刘芝兰, 曾春姣, 李君, 李俊雅

(湘潭职业技术学院 药学教研室, 湖南 湘潭 411102)

摘要:应用荧光光谱法和紫外光谱法对二苯乙烯类化合物白皮杉醇(Piceatannol)、白藜芦醇(Resveratrol)和赤松素(Pinosylvin)与 BSA 之间的相互作用进行研究. 计算了这 3 种化合物与 BSA 的结合常数和结合位点数及热力学函数 ΔG , ΔS , ΔH . 并分析了它们对 BSA 的荧光淬灭过程及其之间的相互作用类型, 运用了 Foerster's 偶极-偶极非辐射能量转移原理测定了与牛血清白蛋白的结合距离. 结果表明, 白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素 3 种二苯乙烯化合物对 BSA 的荧光淬灭属于自发的以疏水作用力为主导的非辐射能量转移的静态淬灭过程. 随分子中 B 环上的羟基数目的逐渐增加, 白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素与 BSA 的结合力逐渐增强.

关键词:白皮杉醇; 白藜芦醇; 赤松素; 牛血清白蛋白; 荧光光谱法

中图分类号: O657.32

文献标识码: A

文章编号: 1672-9102(2013)03-0115-06

白藜芦醇、白皮杉醇和赤松素均是二苯乙烯类化合物, 广泛存于自然界. 大量的实验性研究证实该类化合物具有显著的生物活性. 目前除对赤松素的研究较少, 仅发现其对细菌及多种真菌具有抗菌活性和阻止纸浆化的作用外, 对白藜芦醇的研究从 50 年代初开始迄今从未停止过. 白藜芦醇与白皮杉醇的多重生物学效应已被国内外学者公认, 笔者归纳为“五抗四护一调节”作用. 其中抗氧化, 清除氧自由基是基础, 抗衰老、抗炎、抗菌、抗癌和保护心、脑、肝、肾、血管和骨质以及提高机体免疫调节力是其作用的延续或结果^[1]. 虽然包括美国 NIH (National cancer institute) 在内的机构都在根据白藜芦醇的药理作用致力于进行包括阿尔茨海默病、结肠癌等在内的多种疾病的临床研究, 但实际上白藜芦醇的临床应用仍然处于空白状态^[2]. 这种基础研究与应用脱离的现象引起了生物医药学界的高度重

视. 究其原因可能与制剂类型、药物的吸收, 体内的分布与组织浓度及消除方式等药代动力学有关. 为此, 作者拟从探索白藜芦醇和白皮杉醇及赤松素(如图 1)与 BSA 结合的关系入手, 探究二苯乙烯类化合物的药动学特点.

白蛋白是血浆中转运药物的重要载体, 多种药物分子都能与之结合, 随血液循环被运送到身体的各个部位发挥其药效, 因此, 药物与血清白蛋白的相互作用不仅影响药物在体内的吸收、分布、代谢与排泄, 也在一定程度上预示了药物效应和毒性强弱. 研究药物小分子与血清白蛋白相互作用的热力学特征, 利用白蛋白具有内源性荧光的特点, 测定由白蛋白参与的实验体系中的荧光强度、荧光寿命和峰波长的变化等指标, 来探索药物与白蛋白相互作用机制和蛋白质分子的构型变化以及药物的药理作用, 是国内外生命科学研究者公认的重要手段^[3-4]. 本

收稿日期: 2013-05-08

基金项目: 湖南省科技厅自然科学基金(2011FJ6003)

通信作者: 刘芝兰(1955-), 女, 湖南资兴人, 教授, 主要从事临床药理学研究. E-mail: lzl5507@163.com

课题组采用荧光光谱法,比较了含有不同羟基的3种二苯乙烯化合物白皮杉醇、白藜芦醇、赤松素与BSA的相互作用之区别,探讨了苯环羟基取代对二苯乙烯与BSA相互作用的影响规律.以期能更深入地研究二苯乙烯化合物的药理学特征,或为寻找二苯乙烯类新药提供有价值的信息.

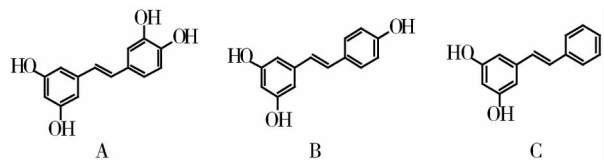


图1 白皮杉醇(A)、白藜芦醇(B)和赤松素(C)
Fig. 1 Piceatannol (A), Resveratrol (B) and Pinosylvin (C)

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

UV-2450 紫外光谱仪(日本 Shimadzu 公司);日立 F-4500 荧光光谱仪(日本日立公司);酸度计;移液器等.牛血清白蛋白(美国 Sigma 公司);白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素(杭州广林生物医药有限公司);缓冲液 PBS(pH = 7.4);所用试剂为分析纯,所用水均为二次去离子水.

1.2 实验方法

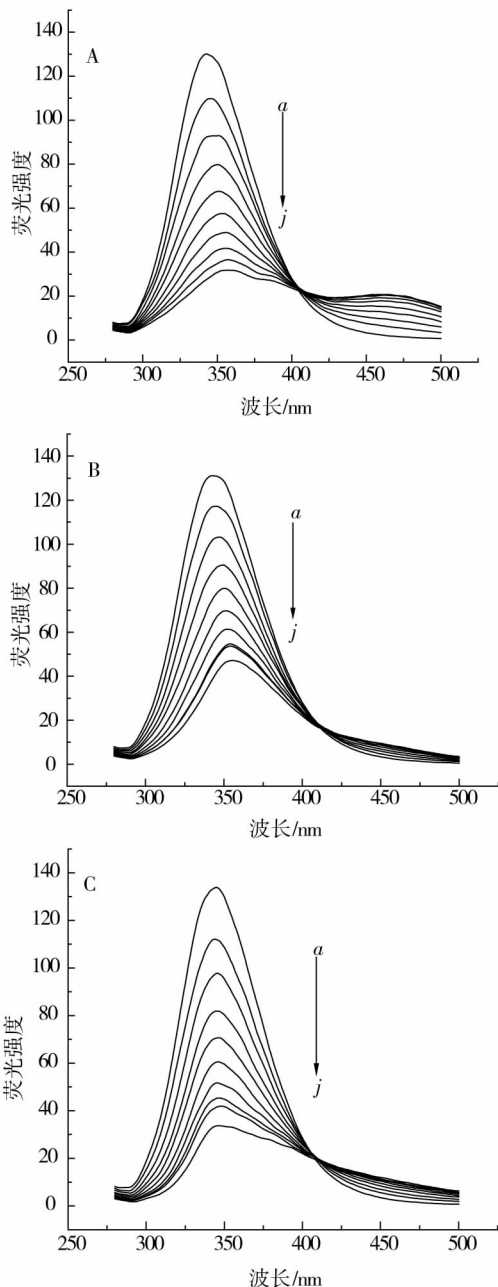
用配好的 PBS(pH = 7.40)溶液把 BSA 配制成 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液,用水和甲醇(体积比为 1:2)将 3 种化合物配成 $2 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的溶液.在比色皿中加入 2.5 mL 配好的 BSA 溶液,然后比色皿中加入不同微量体积的配好的上述 3 种化合物溶液,分别在 310 K, 300 K, 290 K 恒温条件下静置 1 h,固定 $\lambda_{\text{ex}} = 280 \text{ nm}$,在 290 ~ 500 nm 之间扫描 BSA 的荧光光谱及 BSA 在 3 种化合物作用下的荧光强度;在 290 ~ 400 nm 范围内扫描 3 种化合物溶液的紫外光谱.

2 结果与讨论

2.1 白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素对 BSA 荧光淬灭光谱

由于白蛋白分子中含有芳香性氨基酸残基,在紫外光照射下能产生内源性荧光.因此采用光谱法可获得蛋白质与各种小分子物质相互作用的荧光光谱.图 2 为固定 BSA 的浓度,测得不同浓度的白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素与 BSA 相互作用的荧光光谱.由图 2 可知随着白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素浓度的递增,BSA 的荧光光谱发生了规律性变化,其

荧光强度递减,且峰型不变,最大发射波长均发生了红移,尤其是白皮杉醇和白藜芦醇红移较明显.此现象表明白皮杉醇、白藜芦醇、赤松素与 BSA 发生了相互作用,致使 BSA 分子中的 2 个吡啶环中至少一个的微环境发生了变化,荧光生色团所处介质的疏水性增加^[5],可见 3 种化合物都可能与 BSA 形成了不发荧光或发射弱的荧光复合物.



$C_{\text{BSA}} = 1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, (a-j): 0.0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0, 2.4, 2.8, 3.2, 3.6 ($\times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$).

图2 白皮杉醇(A)、白藜芦醇(B)和赤松素(C)对 BSA 的荧光淬灭

Fig. 2 a-j. The fluorescence quenching spectra of BSA by piceatannol (A), resveratrol (B) and pinosylvin (C)

2.2 白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素对 BSA 的荧光淬灭类型

按荧光淬灭机理的不同,可将其分为静态淬灭和动态淬灭.静态和动态淬灭类型可随温度的变化来区别.若随温度的升高,复合物的稳定性增强,且淬灭常数增大,则为动态淬灭,反之则为静态淬灭.动态淬灭是一种能量或电子转移过程,不影响蛋白质的二级结构和生理活性^[6].其作用过程遵循 Stern - Volmer^[7]方程:

$$F_0/F = 1 + K_{SV}[Q] = 1 + K_q\tau_0[Q]. \quad (1)$$

式中, F_0 和 F 分别代表猝灭剂加入之前和加入之后所测得的相对荧光强度, $[Q]$ 为猝灭剂的浓度, K_{SV} 是 Stern - Volmer 猝灭常数, K_q 是双分子猝灭常数.

如果白皮杉醇、白藜芦醇、赤松素对 BSA 的淬灭类型均属于动态淬灭,则他们与 BSA 的作用过程应符合上述方程(1).若以 F_0/F 对 $[Q]$ 作图,可得一直线,斜率就是 K_{SV} .本实验观察了白皮杉醇、白藜芦醇、赤松素在 290 K, 300 K 和 310 K 3 种温度下,对 BSA 的淬灭情况,所得 Stern - Volmer 曲线见图 3.根据方程式(1),经计算白皮杉醇、白藜芦醇、赤松素的动态淬灭常数 K_{SV} 和淬灭速率常数 K_q 的值,结果见表 1.结果表明,BSA 的淬灭曲线呈良好的线性关系,随温度升高,其斜率均下降,且对 BSA 淬灭过程的 K_q 都远大于 $2.0 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ ^[8](各类猝灭剂对荧光分子的最大扩散碰撞淬灭常数),由此可推测白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素对 BSA 的淬灭是由于与 BSA 结合形成了稳定配合物的静态淬灭过程,并非为分子间的相互碰撞所致的动态淬灭过程.

表 1 不同温度下,白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素与 BSA 作用的淬灭常数

Tab.1 Fluorescence quenching parameters of BSA by piceatannol, resveratrol and pinosylvin at different temperatures

化合物	温度/K	$K_{SV}/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$K_q/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	r
白皮杉醇	310	4.93×10^5	4.93×10^{13}	0.994
	300	6.03×10^5	6.03×10^{13}	0.991
	290	6.98×10^5	6.98×10^{13}	0.99
白藜芦醇	310	5.69×10^5	5.69×10^{13}	0.996
	300	7.05×10^5	7.05×10^{13}	0.993
	290	7.68×10^5	7.68×10^{13}	0.994
赤松素	310	6.03×10^5	6.03×10^{13}	0.993
	300	7.44×10^5	7.44×10^{13}	0.991
	290	8.04×10^{13}	8.04×10^{13}	0.997

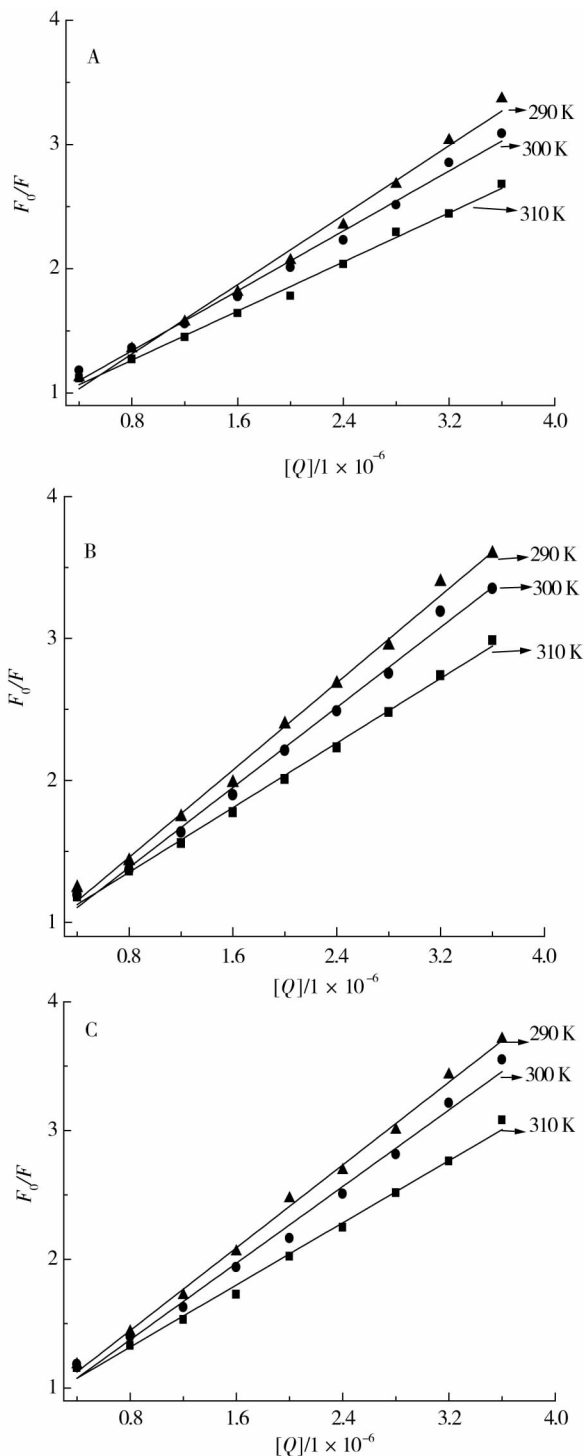


图 3 不同温度下,白皮杉醇(A)、白藜芦醇(B)和赤松素(C)淬灭 BSA 的 Stern - Volmer 曲线

Fig. 3 The Stern - Volmer curves of fluorescence quenching of BSA by piceatannol (A), resveratrol (B) and pinosylvin (C) at different temperatures

2.3 白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素与 BSA 的结合常数和结合位点数

静态淬灭是发光分子基态和猝灭剂形成不发光的基态络合物的过程,在此过程中,其荧光强度、猝灭剂

浓度与结合常数 K_a 的相互关系可以用下式表示^[9]:

$$\lg \frac{F_0 - F}{F} = \lg K_a + n \lg [Q]. \quad (2)$$

式中, F 和 F_0 表示存在和不存在淬灭剂时荧光物质的荧光强度, n 为每一个生物大分子上淬灭剂与其结合的为点数, K_a 为此结合反应的结合常数; $[Q]$ 为淬灭剂的浓度. 以 $\lg (F_0/F - 1)$ 对 $\lg [Q]$ 作图, 可得到结合常数 K_a 和结合位点数 n 的值 (如表 2), 结果表明这 3 种化合物与 BSA 的结合位点数 n 随着 K_a 值的增大而增大且 K_a 值均很大, 这些说明它们之间都具有很强的作用力. 白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素与 BSA 的结合强弱顺序为: 白皮杉醇 > 白藜芦醇 > 赤松素, 这说明二苯乙烯化合物 B 环上的羟基可增强其与 BSA 之间的结合能力. 因此, 二苯乙烯化合物 B 环上的羟基是影响其与 BSA 相互作用的重要基团, 可能和参与 BSA 的反应有关.

表 2 不同温度下, 白皮杉醇, 白藜芦醇和赤松素与 BSA 的平衡常数 K_a 和结合常数 n

Tab.2 Binding constants and binding site number of BSA by picearannol, resveratrol and pinosylvin at different temperatures

化合物	K	$K_a / (L \cdot mol^{-1})$	n	r
白皮杉醇	310	6.49×10^6	1.24	0.998
	290	3.30×10^7	1.31	0.999
白藜芦醇	310	1.86×10^6	1.19	0.996
	290	5.93×10^6	1.27	0.999
赤松素	310	1.54×10^6	1.18	0.998
	290	5.49×10^6	1.23	0.998

2.4 白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素与 BSA 的结合模式

药物等有机小分子与蛋白质大分子发生相互结合的能力主要依赖于分子间形成的氢键、疏水作用力、静电引力和范德华力等. BSA 分子中存在着一个疏水性腔^[10-11], 这是因为 BSA 分子中几乎所有的疏水性氨基酸残基都包埋在一个圆筒内而形成的. 此结构特点决定了 BSA 的空间构象主要靠疏水作用力来维持. 当药物小分子与 BSA 的结合时, 其反应过程中伴随着热力学性质的改变. 不容置疑, 通过测定药物小分子与 BSA 相互结合过程中的熵和焓变化来探讨其与 BSA 的结合方式和性质^[12]是切实可行的. 在温度相对恒定的条件下, 焓变 ΔH 可以看作是一个常数. 根据反应前后焓变 ΔH 和熵变

ΔS 的相对大小, 可以判断出小分子化合物与蛋白质的主要作用力类型^[13]. 根据 van't Hoff 方程和热力学第一定律:

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{RT} + \frac{\Delta S}{R}; \quad (3)$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S. \quad (4)$$

式中 K 为药物与蛋白质的结合常数, R 为气体常数 $8.314472 J \cdot K \cdot mol$. 利用上述所计算的各化合物在常温下的 K_a 值计算 3 种二苯乙烯化合物和 BSA 作用的热力学参数 (见表 3). 由通过表 1 可知 $\Delta G < 0$, $\Delta S > 0$, 3 种二苯乙烯化合物与 BSA 的结合是一个自发放热过程, 即该反应是自发进行的. 根据 3 种二苯乙烯化合物的 $\Delta H < 0$, $\Delta S > 0$, 由 Ross 生物大分子和小分子的结合力性质规律判断^[14], 3 种二苯乙烯化合物与 BSA 之间以疏水作用为主, 即通过疏水作用力进入 BSA 的疏水空腔的内部形成稳定的配合物^[15].

表 3 白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素与 BSA 相互作用的 $\Delta G, \Delta S$
Tab.3 Piceatannol, resveratrol and pinosylvin and BSA interaction $\Delta G, \Delta S$

化合物	$\Delta H / (kJ \cdot mol^{-1})$	$\Delta G / (kJ \cdot mol^{-1})$	$\Delta S / (J \cdot mol \cdot K^{-1})$
白皮杉醇	-5.98	-16.43	36.16
白藜芦醇	-2.89	-11.13	27.47
赤松素	-2.48	-10.01	24.30

2.5 白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素与 BSA 的结合距离

根据荧光共振能量转移 (Förster 非辐射能量转移原理)^[16]: 如果一个荧光基团 (供体 Donor) 的发射光谱与另一个基团 (受体 Acceptor) 的吸收光谱有足够的重叠, 且供体与受体之间的距离不超过 7 nm 时, 将会发生非辐射能量转移现象, 从而使荧光体荧光猝灭. 能量转移效率 E 与供体 - 受体间距离 r_0 以及临界能量转移距离 R_0 之间的关系为

$$E = 1 - \frac{F}{F_0} = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6}; \quad (5)$$

$$R_0^6 = 8.8 \times 10^{-25} K^2 \Phi N^{-4} J; \quad (6)$$

$$J = \frac{\sum F(\lambda) \varepsilon(\lambda) \lambda^4 \Delta \lambda}{\sum F(\lambda) \Delta \lambda}. \quad (7)$$

式中, F_0 和 F 表示不存在和存在淬灭剂时荧光物质的荧光强度, r 为给体 - 受体间的距离; R_0 为能量传递效率为 50% 时给体 - 受体间的临界距离; K^2 为偶极空间取向因子; N 为介质的折射指数; Φ 为供体 (BSA) 的荧光量子产率. J 为供体 (BSA) 荧光光谱与受体药物分子紫外吸收光谱的重叠积分.

图4为BSA的荧光光谱与白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素的紫外吸收光谱的重叠图谱。多数情况下, K^2 , N 和 φ 分别取 $2/3$, 1.336 和 0.118 ^[17], 经计算得出 J , R_0 及 r 的值(见表4), 由计算结果可知3种二苯乙烯化合物与BSA的结合距离分别为 4.50 nm , 4.60 nm 和 4.80 nm , 均小于 7 nm , 表明BSA与3种二苯乙烯化合物之间发生了非辐射能量转移。因此, BSA在白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素的作用下发生的荧光淬灭属于非辐射能量转移的静态淬灭过程所导致。

表4 白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素与BSA的结合参数
Tab. 4 The distance parameters of BSA with piceatannol, resveratrol and pinosylvin

化合物	$J/(\text{cm}^3 \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	R_0/nm	r/nm
白皮杉醇	1.13×10^{-14}	3.20	4.50
白藜芦醇	1.04×10^{-14}	3.48	4.60
赤松素	6.23×10^{-15}	3.53	4.80

3 结论

本实验采用荧光光谱法对白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素3种二苯乙烯化合物与BSA的相互作用进行了研究。结果表明:白皮杉醇、白藜芦醇和赤松素3种二苯乙烯化合物对BSA的荧光淬灭属于自发的以疏水作用力为主导的非辐射能量转移的静态淬灭过程。3种二苯乙烯化合物分子和BSA的结合力与B环上的羟基数有关, 随之增加而增强, 由此推测, 二苯乙烯化合物分子B环上的羟基可能是与BSA结合的活性基团, 且羟基的数量及取代的位置决定着其作用强度。

参考文献:

- [1] 刘芝兰, 曾春姣, 吴梅青, 等. 3种二苯乙烯类化合物的生物活性与临床应用[J]. 广东医学, 2013, 34(4): 631-634.
Liu Z L, Zeng C J, Wu M Q, et al. Bioactivities and clinical applications of three stilbene compounds [J]. Guangdong Medical Journal, 2013, 34(4): 631-634.
- [2] 马清涌. 白藜芦醇研究及应用进展[C]//植物化学物与人体健康研究新进展国际学术研讨会论文集. 北京: 中国毒理学会, 2010.
Ma Q Y. Research and application advancement of resveratrol [C]//Proceeding of Academic Conference on New Development of the Researches on Phytochemicals and Human Health. Beijing: Chinese Society of Toxicology, 2010.
- [3] 周磊, 迟燕华, 梁子卓, 等. 对硝基苯酚与牛血清白蛋白相互作用的荧光光谱研究[J]. 光谱实验室, 2007, 24(5): 757-761.
Zhou L, Chi Y H, Liang Z Z, et al. Fluorescence study on the interaction of p-nitrophenol with bovine serum albumin [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2007, 24(5): 757-761.
- [4] 李惠卿, 赵雅琴, 杨斌盛. TNS与牛血清白蛋白相互作用的荧光光谱研究[J]. 光谱实验室, 2007, 24(1): 1-5.
Li H Q, Zhao Y Q, Yang B S. Fluorescence spectral study on interaction of TNS with bovine serum albumin [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2007, 24(1): 1-5.
- [5] Tian J N, Liu J Q, Cheng X G, et al. Study of the interaction of kaempferol with bovine serum albumin [J]. Journal of Molecular Structure, 2004, 691: 197-202.

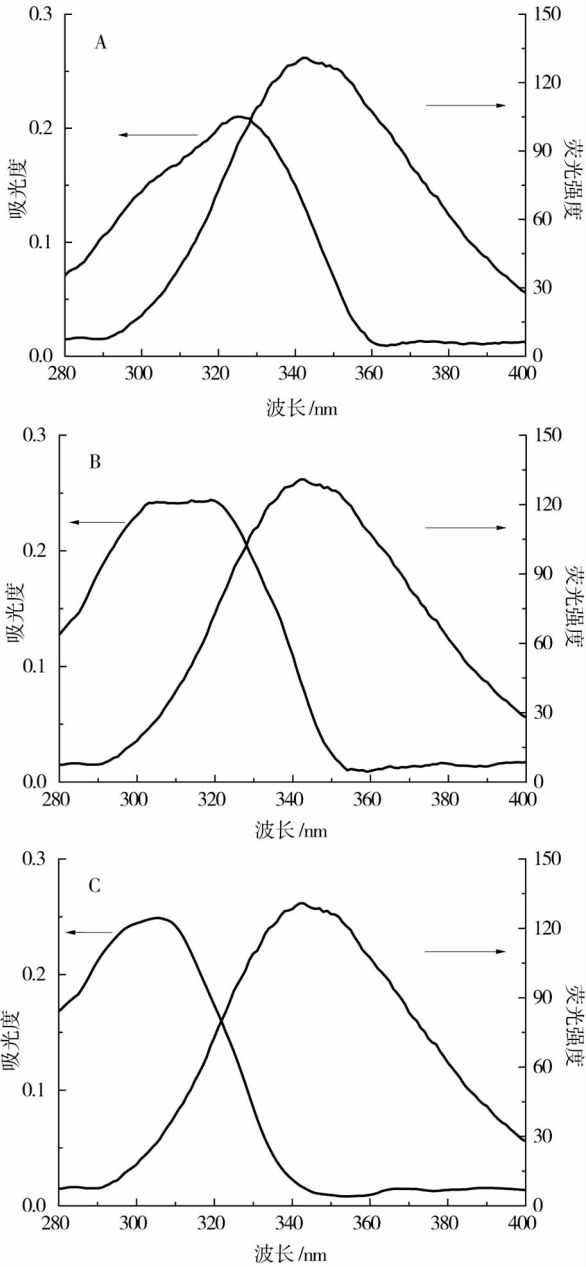


图4 白皮杉醇(A), 白藜芦醇(B)和赤松素(C)的紫外吸收光谱和BSA荧光光谱叠加图

Fig.4 Overlapped spectra of fluorescence spectrum of BSA with absorption spectra of piceatannol (A), resveratrol (B) and pinosylvin (C)

- [6] 张建新,李建晴. 甲苯胺蓝与牛血清白蛋白作用的光谱特征研究[J]. 分子科学学报,2010,26(5):317-320.
Zhang J G, Li J Q. Study on the interaction between toluidine blue and bovine serum albumin[J]. Journal of Molecular Science, 2010, 26(5):317-320.
- [7] Yan Z N, Shao X F, Yan L, et al. Interaction between gatifloxacin and bovine serum albumin[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2005,40:33-37.
- [8] 张方圆,倪永年. 日落黄和 β -胡萝卜素与牛血清白蛋白相互作用的对比研究[J]. 化学学报,2012,70(12):1379-1384.
Zhang F Y, Ni Y N. A comparison study on the interaction of sunset yellow and β -Carotene with bovine serum albumin[J]. Acta Chimica Sinica, 2012,70(12):1379-1384.
- [9] Prasad A R S, Luduena R F, Horowitz M P. Detection of energy transfer between tryptophan residues in the tubulin molecule and bound bis(8-anilinonaphthalene-1-sulfonate), an inhibitor of microtubule assembly, that binds to a flexible region on tubulin[J]. Biochemistry, 1986, 25(12):3536-3540.
- [10] Okaba N, Hokaze M. Synthesis and antitumor activities of water-soluble benzoylphenylureas[J]. Chemical Pharmaceutical Bulletin, 1993, 41(3):430-433.
- [11] Charles B B, Bruce S H, Larry A S, et al. Human serum albumin spectroscopic studies of binding and proximity relationships for fatty acids and bilirubin[J]. Journal of Biological Chemistry, 1979, 254(1):391-400.
- [12] Tanford C. The Hydrophobic Effect: Formation of micelles and biological membranes [M]. New York: John Wiley and Sons, 1973.
- [13] 马康,陈晓青,陈景文. 荧光光谱法研究三种黄酮类化合物与BSA的相互作用[J]. 光谱实验室,2008,25(4):662-668.
Ma K, Chen X Q, Chen J W. Study on the interaction of three flavones with BSA by means of fluorescence spectroscopy [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2008, 25(4):662-668.
- [14] Ross D P, Subramanian S. Thermodynamics of protein association reactions: forces contributing to stability[J]. Biochemistry, 1981, 20(11):3096.
- [15] 李志良,李俊忠,毕琼斯,等. 新型钆抗癌配合物初步筛选与作用机制的荧光法研究[J]. 化学学报, 1997, 55(8):766-772.
Li Z L, Li J Z, Bi Q S, et al. Fluorimetry used for preliminary screening of eleven novel palladium complexes as potential antitumor agents[J]. Acta Chimica Sinica, 1997, 55(8):766-772.
- [16] Foerster T, Sinanoglu O. Modern quantum chemistry [M]. New York: Academic Press, 1996.
- [17] Jr Horrocks W D, Collier W E. Lanthanide ion luminescence probes measurement of distance between intrinsic protein fluorophores and bound metal ions: Quantitation of energy transfer between tryptophan and terbium(III) or europium(III) in the calcium-binding protein parvalbumin[J]. Journal of American Chemical Society, 1981, 103:2856-2862.

Study on the interaction between flavonoid components of piceatannol, resveratrol, pinosylvin and bovine serum albumin by fluorescence spectroscopy

LIU Zhi-lan, ZENG Chun-jiao, LI Jun, LI Jun-ya

(Department of Pharmacognosy Xiangtan Vocational & Technical College, Xiangtan 411102, China)

Abstract: The interactions between BSA and three stilbene compounds, piceatannol, resveratrol and pinosylvin were studied by means of fluorescence spectroscopy. The respective binding constant K_a and number of binding sites of each compound were calculated as well as thermodynamic function ΔG , ΔS , ΔH . The binding distance between each and BSA was obtained by Foerster's dipole-dipole non-radiation energy transfer mechanism. The result showed that the binding of each compound with BSA proceeds spontaneously, and is mainly dominated by hydrophobic forces. Non-radiation energy transfer occurred between BSA with each compound. The structure of the three compounds influences significantly the binding process and the affinity increases with the numbers of -OH groups on the B-ring.

Key words: piceatannol; resveratrol; pinosylvin; bovine serum albumin; fluorescence spectroscopy