

同步荧光光谱研究头孢匹林钠与牛血清白蛋白相互作用机制

黎 顺, 徐 科*, 李 松, 刘正宏

贵州师范学院化学与材料学院, 贵州 贵阳

收稿日期: 2024年4月29日; 录用日期: 2024年5月24日; 发布日期: 2024年5月31日

摘 要

本文采用同步荧光光谱研究不同温度下头孢匹林钠(CP) - 牛血清白蛋白(BSA)相互作用机制及药物协同性和酪氨酸(Tyr)和色氨酸(Trp)残基的药物结合率及药物的蛋白结合率。结果表明: 随着CP浓度逐渐增大, 波长发生红移, Tyr和Trp残基周围微环境发生改变; CP与BSA结合发生静态猝灭, Tyr和Trp残基均参与体系结合反应。 $N_{SFQ(Tyr)} < N_{SFQ(Trp)}$, 结合位置更靠近Trp残基, 结合位点数 $n \approx 1$, $\Delta G < 0$, $\Delta H > 0$, $\Delta S > 0$, 体系环境以疏水作用为主; 模拟生理条件下, Hill系数 n_H 略小于1, 表现为弱的负协同作用; c_{CP} 在48~72 $\mu\text{g/mL}$ 时, CP在Tyr残基的蛋白结合率 $W(B)$ 为47.92%~58.00%, 在Trp残基的 $W(B)$ 为48.13%~65.05%时, 游离药物率在40%~50%之间, 表明40%~50%的药物具有药物活性, 50%~65%的药物与血浆蛋白结合成结合型药物, 影响药物的药理活性。

关键词

静态猝灭, 疏水作用, 负协同作用, 蛋白结合率

Study on the Interaction Mechanism between Cephalosporin Sodium and Bovine Serum Albumin by Synchronous Fluorescence Spectroscopy

Shun Li, Ke Xu*, Song Li, Zhenghong Liu

School of Chemistry and Materials Science, Guizhou Education University, Guiyang Guizhou

Received: Apr. 29th, 2024; accepted: May 24th, 2024; published: May 31st, 2024

*通讯作者。

文章引用: 黎顺, 徐科, 李松, 刘正宏. 同步荧光光谱研究头孢匹林钠与牛血清白蛋白相互作用机制[J]. 临床医学进展, 2024, 14(5): 2593-2601. DOI: 10.12677/acm.2024.1451724

Abstract

In this paper, synchronous fluorescence spectroscopy was used to study the mechanism of cefapirin sodium (CP)-bovine serum albumin (BSA) interaction and drug synergism and the drug binding rate of tyrosine (Tyr) and tryptophan (Trp) residues as well as protein binding of the drug at different temperatures. The results showed that: with the gradual increase of CP concentration, the wavelength was red-shifted, the microenvironment around Tyr and Trp residues was changed. The binding of CP to BSA took place in a static burst, and both Tyr and Trp residues were involved in the binding reaction of the system. $N_{SFQ(Tyr)} < N_{SFQ(Trp)}$, the binding position was closer to Trp residues, the number of binding site $n \approx 1$, $\Delta G < 0$, $\Delta H > 0$, $\Delta S > 0$, the system environment was dominated by hydrophobic interaction. Under simulated physiological conditions, the Hill coefficient n_H was slightly less than 1, which showed weak negative synergism. $c_{CP} = 48\sim 72 \mu\text{g/mL}$, the protein binding rate of CP at Tyr residues $W(B)$ ranged from 47.92% to 58.00%, and that at Trp residues $W(B)$ ranged from 48.13% to 65.05%, the free drug rate ranged from 40% to 50%, indicating that 40% to 50% of the drug was pharmacologically active, and 50%~65% of the drug bound to plasma proteins to form a conjugated drug, affecting the pharmacological activity of the drug.

Keywords

Static Burst, Hydrophobic Interaction, Negative Synergy, Protein Binding Rate

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

1. 引言

因药物小分子与血清白蛋白结合生成的复合物经过转运到达靶位发挥药理作用[1], 所以探究药物小分子和蛋白质之间的相互作用机制已经成为近些年的研究热点, 牛血清白蛋白(BSA)和人血清白(HSA)蛋白的三级结构相似, 序列同源性高达 76% [2], 且价格便宜等优点, 因此本实验用 BSA 替代 HAS 研究与药物小分子的结合作用。同步荧光光谱分析法具有较好的选择性、较高的灵敏度, 可减少光谱测量过程中的干扰[3]等优点, 同时可以分析药物与蛋白质中 Tyr 与 Trp 残基结合常数、结合位数、结合作用力及 Tyr 与 Trp 残基周围微环境的变化情况, 从而得到药物与蛋白质相互作用的机理。

头孢匹林钠(CP)属于一代头孢菌素, 主要用于肺炎链球菌、葡萄球菌等抗菌作用。CP 的检测方法包括光谱法、荧光法、高效液相色谱法和紫外法等[4] [5], 采用同步荧光光谱法研究 CP 与 BSA 相互作用机制和药物协同作用的研究报道甚少, 本论文拟采用同步荧光研究 CP 和 BSA 结合的作用机制和药物协同性及酪氨酸(Tyr)和色氨酸(Trp)残基的药物结合率及药物的蛋白结合率, 为药物在临床应用提供重要参考。

2. 实验部分

2.1. 仪器与试剂

仪器: 荧光分光光度计(Agilent Cary eclipse, Germany), pH 计(PHS-25, 上海)

试剂: 牛血清白蛋白(BSA, Sigma 公司), 头孢匹林钠(CP, Sigma 公司, 纯度 $\geq 98\%$), 0.5 mol/L NaCl

溶液(分析纯), pH = 7.36 的三羟甲基氨基甲烷盐酸盐(Tris-HCl)缓冲溶液(分析纯), 实验用水为二次蒸馏水。

2.2. 实验步骤

配制 CP 储备液: 准确称量 0.302 g, 定容为 100 mL, 浓度为 3.02 g/L。

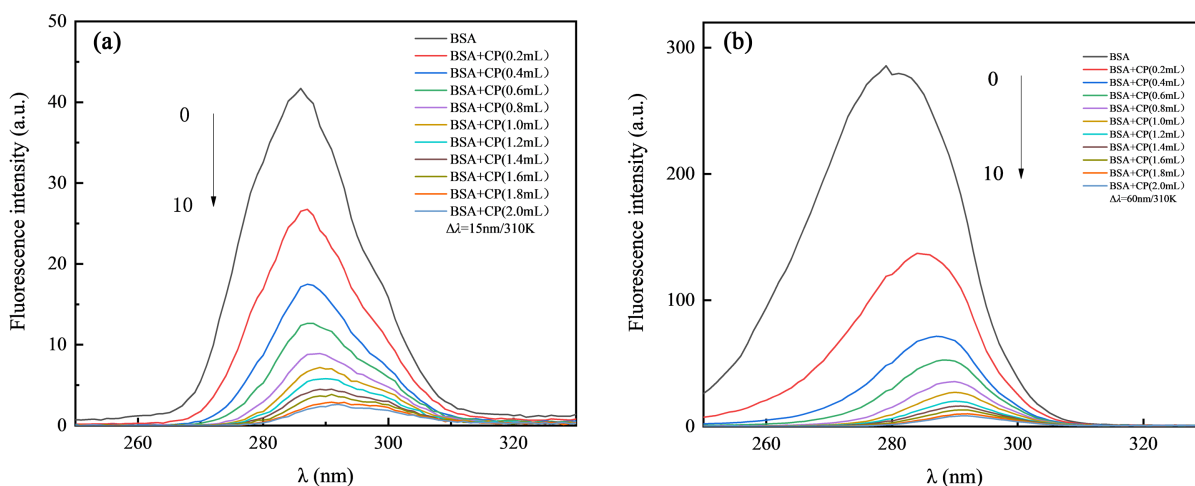
配制 BSA 储备液: 准确称量 72.5 mg, 用 pH = 7.36 的 Tris-HCl 缓冲溶液定容至 100 mL, 使其浓度为 0.725 mg/mL, 置于冰箱冷藏保存。

同步荧光光谱扫描: 在 25 mL 比色管中依次加入 2.00 mL BSA、5.00 mL 0.5 mol/L NaCl 溶液, 依次加入 0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.20、1.40、1.60、1.80、2.00 mL 的 CP 储备液, 用 pH = 7.36 的 Tris-HCl 缓冲溶液定容至 25.00 mL, 静置 30 min。荧光比色皿为 1 cm, 入射和出射狭缝均为 5 nm, 分别在 310 K, 298 K, 288 K, $\Delta\lambda = 15$ nm 和 $\Delta\lambda = 60$ nm 时, 扫描体系的同步荧光光谱。

3. 结果与讨论

3.1. CP-BSA 的同步荧光光谱

对于 BSA 来说, 当 $\Delta\lambda = 15$ nm 时扫描的荧光光谱, 呈现的是 BSA 中酪氨酸(Tyr)残基的光谱信息, 当 $\Delta\lambda = 60$ nm 时为色氨酸(Trp)残基的光谱信息, 通过扫描 CP-BSA 的同步荧光光谱(见图 1), 可知 CP 的加入对 BSA 中 Tyr 和 Trp 残基的光谱信息的影响。



$c_{\text{BSA}} = 8.729 \times 10^{-7}$ mol/L; $0 \sim 10 c_{\text{CRO}} = (0, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20, 1.40, 1.60, 1.80, 2.00) \times 2.712 \times 10^{-4}$ mol/L。

Figure 1. Synchronous fluorescence spectra of CP-BSA ($T = 310$ K, (a) $\Delta\lambda = 15$ nm; (b) $\Delta\lambda = 60$ nm)

图 1. CP-BSA 的同步荧光光谱($T = 310$ K, (a) $\Delta\lambda = 15$ nm; (b) $\Delta\lambda = 60$ nm)

从图 1(a)中可以看出, 随着 CP 浓度逐渐增大, BSA 中 Tyr 残基的荧光强度发生明显的荧光猝灭, 波长发生微小的移动, 从 286 nm 红移至 292 nm, 红移了 6 nm; 图 1(b)中看出, Trp 残基荧光强度衰弱很明显, 同时波长发生明显的红移, 从 279 nm 红移至 292 nm, 红移了 13 nm, 表明 Tyr 残基和 Trp 残基周围的微环境发生改变, 从而影响 BSA 的能级结构。

根据不同温度下 CP-BSA 体系 Stern-Volmer 方程[6] (公式 1), $\Delta\lambda = 15$ nm 和 $\Delta\lambda = 60$ nm 时, 以 F_0/F 对 c_q 作图, 见图 2。

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{sv}c_q = 1 + K_q\tau c_q \quad (1)$$

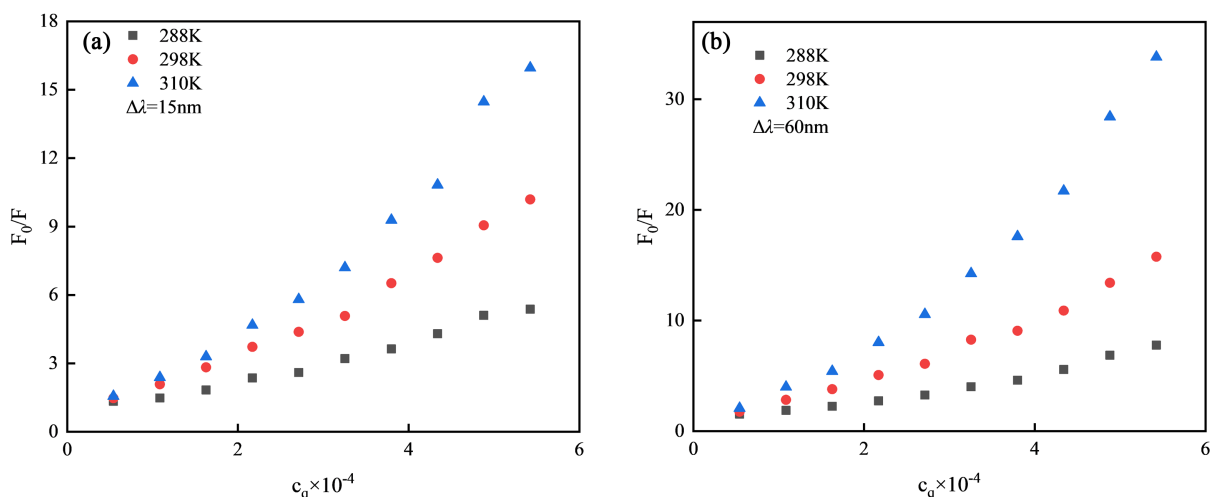


Figure 2. Stern-Volmer plots for the quenching of CP-BSA at different temperatures ((a) $\Delta\lambda = 15$ nm; (b) $\Delta\lambda = 60$ nm)
图 2. 不同温度下 CP-BSA 体系的 Stern-Volmer 曲线((a) $\Delta\lambda = 15$ nm; (b) $\Delta\lambda = 60$ nm)

图 2(a), 图 2(b) 分别为 $\Delta\lambda = 15$ nm 和 $\Delta\lambda = 15$ nm 时 CP-BSA 体系的 Stern-Volmer 曲线, 拟合曲线(截距为 1), 得到不同温度下的 K_{sv} 和 K_q , 见表 1:

Table 1. Quenching reactive parameters of CP-BSA at different temperatures

表 1. CP-BSA 的荧光猝灭反应参数

$\Delta\lambda$ (nm)	T (K)	K_q ($L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$)	K_{sv} ($L \cdot mol^{-1}$)	r_1	K_a ($L \cdot mol^{-1}$)	n	r_2
15	288	0.747×10^{12}	0.747×10^4	0.9959	0.6933×10^5	1.0890	0.9965
	298	1.515×10^{12}	1.515×10^4	0.9979	1.374×10^5	1.0854	0.9986
	310	2.363×10^{12}	2.363×10^4	0.9923	6.604×10^5	1.1320	0.9978
60	288	1.081×10^{12}	1.081×10^4	0.9960	1.013×10^5	1.0128	0.9940
	298	2.363×10^{12}	2.363×10^4	0.9964	1.814×10^5	1.0645	0.9979
	310	4.947×10^{12}	4.947×10^4	0.9939	17.10×10^5	1.1607	0.9966

n 是 CP-BSA 的结合位点数; r_1 是方程 $F_0/F \sim c_q$ 的线性相关系数; r_2 是方程 $\log(F_0 - F)/F \sim \lg c_q$ 的线性相关系数。

从表 1 数据来看, $\Delta\lambda = 15$ nm 和 $\Delta\lambda = 60$ nm 不同温度下的 $K_q > 2.0 \times 10^{10} L \cdot mol^{-1} \cdot s^{-1}$, 表明 CP 与 BSA 相互作用发生静态猝灭[7], 同时随着温度升高, K_q 逐渐增大; 相同温度下, $\Delta\lambda = 15$ nm 的 K_a 与 $\Delta\lambda = 60$ nm 的相比, $\Delta\lambda = 60$ nm 的结合常数 K_a 大于 $\Delta\lambda = 15$ nm, 说明 CP 在与 BSA 结合过程中 CP 更靠近 Trp 残基形成复合物, 同时在相同波长差, 随着温度升高, 结合常数 K_a 逐渐增大, 表明温度升高有利于 CP 与 BSA 结合。同时运用下述公式(2)计算求出结合位点数 n 以及结合常数 K_a 。

$$\lg(F_0 - F)/F = \lg K_a + n \lg c_q \quad (2)$$

不同温度下, $\Delta\lambda = 15$ nm 和 $\Delta\lambda = 60$ nm, 以 $\log(F_0 - F)/F \sim \lg c_q$ 作图, 见图 3。

从图 3 中可以看出, 不同温度下, CP-BSA 的 $\log(F_0 - F)/F \sim \lg c_q$ 曲线呈良好的线性关系, 结合位点数 n 及结合常数 K_a 数据列于表 1, 由此得出 CP-BSA 的结合位数 $n \approx 1$, 表明药物 CP 与 BSA 形成 1:1 复合物。

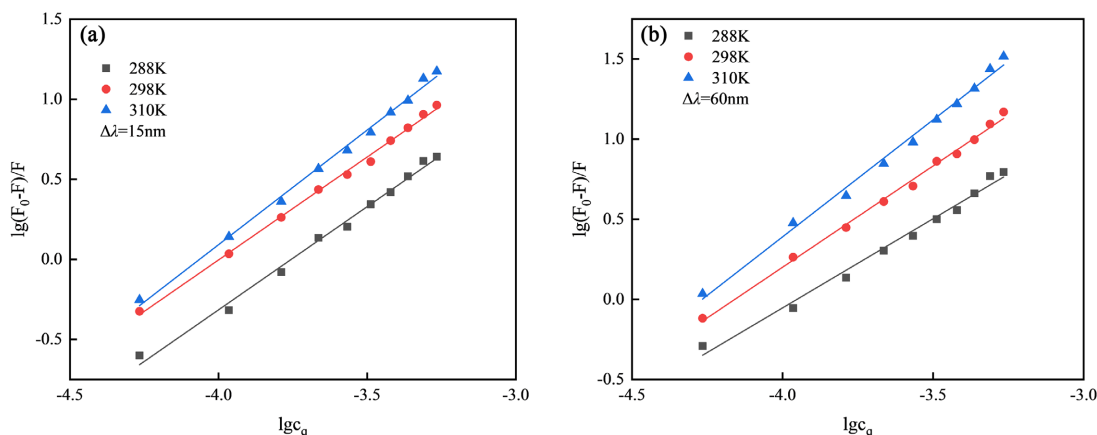


Figure 3. $\log(F_0 - F)/F \sim \lg c_q$ plots for the quenching of CP-BSA at different temperatures ((a) $\Delta\lambda = 15$ nm; (b) $\Delta\lambda = 60$ nm)
图 3. 不同温度下 CP-BSA 的 $\log(F_0 - F)/F \sim \lg c_q$ 曲线((a) $\Delta\lambda = 15$ nm; (b) $\Delta\lambda = 60$ nm)

荧光猝灭比率 R_{SFQ} [8] ($R_{SFQ} = (F_0 - F)/F_0$) 和比例分数 N_{SFQ} [9] ($N_{SFQ(Tyr)} = R_{SFQ(Tyr)} / (R_{SFQ(Tyr)} + R_{SFQ(Trp)})$, $N_{SFQ(Trp)} = 1 - N_{SFQ(Tyr)}$) 可进一步表示 BSA 中 Tyr 和 Trp 残基参与体系结合情况。模拟生理条件下 310 K 时, $c_{BSA} = 58 \mu\text{g/mL}$, $c_{CP} = (0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20, 1.40, 1.60, 1.80, 2.00) \times 120.8 \mu\text{g/mL}$ 时, $N_{SFQ(Tyr)}$ 分别为 40.81%、43.64%、46.06%、47.31%、47.76%、48.08%、48.61%、48.76%、49.11%、49.13%, 平均值为 46.93%; $N_{SFQ(Trp)}$ 分别为 59.19%、56.36%、53.94%、52.69%、52.24%、51.92%、51.39%、51.24%、50.89%、50.87%, 平均值为 53.07%, 结果表明 BSA 中 Tyr 和 Trp 残基均参与体系结合反应, 与上述 CP-BSA 结合位置的结论一致, 且 $N_{SFQ(Trp)} > N_{SFQ(Tyr)}$, 说明体系结合反应更靠近 Trp 残基, 此结论与上述 K_a 结论一致。

3.2. CP-BSA 的结合作用力类型

在不同温度下, 由 Stern-Volmer 方程推演式(3), 由 $1/(F_0 - F) \sim 1/c_q$ 作图, 见图 4。

$$\frac{1}{F_0 - F} = \frac{1}{F_0} + \frac{1}{K_D F_0 c_q} \quad (3)$$

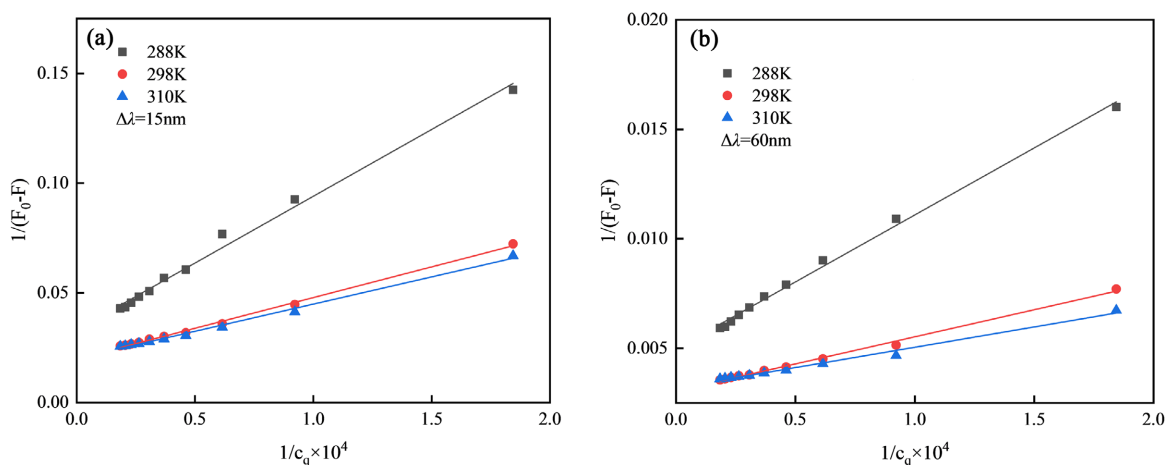


Figure 4. $1/(F_0 - F) \sim 1/c_q$ plots for the quenching of CP-BSA at different temperatures ((a) $\Delta\lambda = 15$ nm; (b) $\Delta\lambda = 60$ nm)
图 4. 不同温度下 CP-BSA 的 $1/(F_0 - F) \sim 1/c_q$ 曲线((a) $\Delta\lambda = 15$ nm; (b) $\Delta\lambda = 60$ nm)

图 4(a), 图 4(b)分别是不同温度下 $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 和 $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ 时的 $1/(F_0 - F) \sim 1/c_q$ 曲线, 可以看出, 不同温度下 $1/(F_0 - F) \sim 1/c_q$ 曲线呈现较好的线性关系, $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 和 $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ 时, 随着温度升高, K_D 逐渐增大; 当温度相同时, $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ 的 K_D 大于 $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 的 K_D , 同时也表明药物 CP 与 BSA 结合更靠近 Trp 残基。

根据 Vant's Hoff 方程(式 4)和热力学方程(式 5), 计算 CP-BSA 结合的热力学参数, 结果见表 2:

$$R \ln K = \Delta S - \Delta H/T \quad (4)$$

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

温度变化不大时, ΔH 基本不变化, 以 $R \ln K_D$ 与 $1/T$ 作图, ΔH 即可由不同温度下 CP-BSA 的 Vant's-Hoff 线性关系图得到, 见图 5。

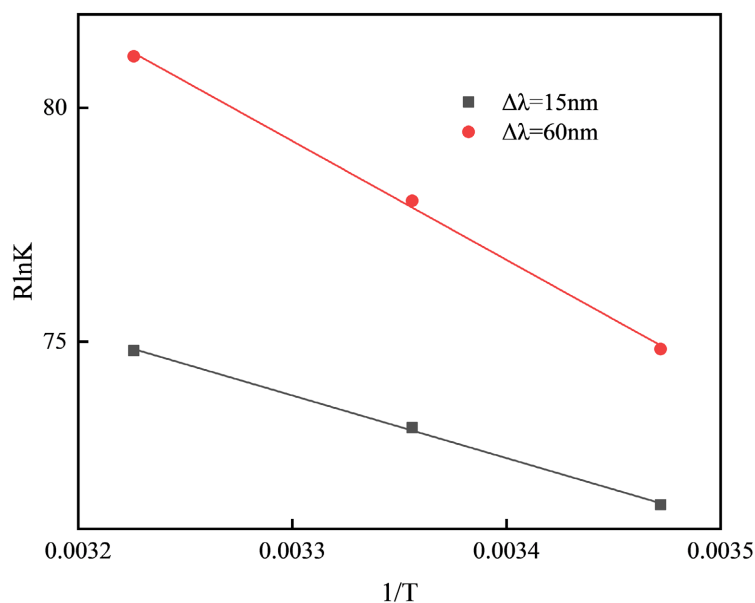


Figure 5. Vant's-Hoff plot for the interaction of CP-BSA at different temperatures
图 5. 不同温度下 CP-BSA 的 Vant's-Hoff 曲线

从图 5 中可以看出 $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 及 $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ 时, $R \ln K_D$ 与 $1/T$ 呈现良好的线性关系, r 分别为 0.9990 和 0.9984。根据图 5, 式(5)得到 ΔH , ΔS , ΔG , 结果列于表 2 中。

Table 2. Thermodynamic parameters of CP-BSA at different temperatures

表 2. 不同温度下 CP-BSA 的热力学参数

	$T(\text{K})$	$K_D \times 10^3 (\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta H / (\text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$	$\Delta S / (\text{J} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta G / (\text{KJ} \cdot \text{mol}^{-1})$
$\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$	288	5.4426		118.01	-20.60
	298	6.6348	13.39	118.10	-21.80
	310	8.0927		118.01	-23.19
$\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$	288	8.1209		163.07	-21.55
	298	11.890	25.41	163.28	-23.25
	310	17.243		163.07	-25.14

从表 2 中数据看出, $\Delta H_{\Delta\lambda=60\text{ nm}} > \Delta H_{\Delta\lambda=15\text{ nm}}$, 且 $\Delta H > 0$, 表明 CP 与 BSA 靠近 Trp 结合时, 放出的热量更大; ΔG 随着温度升高 ΔG 逐渐降低, CP 与 BSA 结合自发进行, 并且在相同温度下, $\Delta G_{\Delta\lambda=60\text{ nm}} > \Delta G_{\Delta\lambda=15\text{ nm}}$, 说明 CP 与 BSA 结合时更靠近 Trp 残基, 这与前面分析结论一致; $\Delta S_{\Delta\lambda=60\text{ nm}} > \Delta S_{\Delta\lambda=15\text{ nm}}$, 说明在 CP 与 BSA 结合时, Trp 残基的混乱度远大于 Tyr 残基, 表明 Trp 残基更易与 CP 结合, 同时 $\Delta S > 0$, 表明 CP-BSA 环境中溶剂分子以有序的方式在 CP 与 BSA 体系周围; $\Delta H > 0$, $\Delta S > 0$, $\Delta G < 0$, 由此可判断 CP 与 BSA 结合的作用力以疏水作用力为主[10]。

3.3. 药物协同性及蛋白结合率

药物协同性可体现临床联合用药时的药效, 因此药物的协同性作为分析研究药物与蛋白质结合的重要内容之一。药物协同性可以用 Hill 方程[11]的系数 n_H 进行定量分析, Hill 方程(6):

$$\lg\left(\frac{Y}{1-Y}\right) = \lg K_a + n_H \lg[L] \quad (6)$$

Y 为结合饱和分数, 其中 $Y/(1-Y) = Q/(Q_m - Q)$, $Q = 1 - F/F_0$, $1/Q$ 对 $1/[L]$ 作图得到 $1/Q_m$; n_H 为 Hill 系数, n_H 由 $\lg[Y/(1-Y)]$ 对 $\lg[L]$ 作图得到, $n_H > 1$ 表现为正协同作用, $n_H < 1$ 为负协同作用, $n_H = 1$ 没有协同作用[12]。

根据 Hill 方程得到 $\Delta\lambda = 15\text{ nm}$ 及 $\Delta\lambda = 60\text{ nm}$ 时 n_H , 结果列表于表 3。

Table 3. Hill coefficient of CP-BSA at different temperatures
表 3. 不同温度下 CP-BSA 的 Hill 系数

T/K	$\Delta\lambda = 15\text{ nm}$		$\Delta\lambda = 60\text{ nm}$	
	n_H	r_1	n_H	r_2
288	1.1500	0.9933	1.1340	0.9923
298	1.0582	0.9988	0.9494	0.9976
310	0.9266	0.9944	0.9165	0.9968

从表 3 中数据看出, $\Delta\lambda = 15\text{ nm}$ 及 $\Delta\lambda = 60\text{ nm}$ 时 n_H 略小于 1, 表明药物 CP 加入 BSA 后, 具有弱负协同作用, 对后续药物与 BSA 的结合具有较弱的负面结果或副作用。

CP-BSA 中 Tyr 和 Trp 残基的药物结合率($W(Q)$)及药物 CP 的蛋白结合率($W(B)$) [13]可根据公式(7)~(8)计算得到。

$$W(Q) = \frac{K_a(Q+B)+1-\sqrt{K_a^2(Q-B)^2+2K_a(Q+B)+1}}{2K_aQ} \times 100\% \quad (7)$$

$$W(B) = \frac{K_a(Q+B)+1-\sqrt{K_a^2(Q-B)^2+2K_a(Q+B)+1}}{2K_aB} \times 100\% \quad (8)$$

式(7)与式(8)中, K_a 为 CP-BSA 的结合常数, Q 和 B 分别代表[CP]和[BSA]的总浓度。

模拟生理条件下, c_{CP} 在 24~240 $\mu\text{g/mL}$ 时, CP-BSA 中 Tyr 残基的药物结合率($W(Q)$)为 0.48%~0.13%, 游离的 Tyr 残基为 99.252%~99.87%; Trp 残基的药物结合率($W(Q)$)为 0.77%~0.15%, 游离的 Trp 残基为 99.23%~99.85%, 从数据表明, CP 加入到 BSA 中后, BSA 中 Tyr 残基和 Trp 残基数量几乎不变, 且主要以游离状态为主, 说明 CP 与 BSA 结合并不影响 CP 的药物浓度。

CP 口服吸收较差,常用于肌肉注射和静脉注射,当静脉给药 1g 以后,15 分钟后 c_{\max} 为 40~70 $\mu\text{g/mL}$, 50%~65%的 CP 与血浆蛋白结合[14]。本实验模拟生理条件下, c_{CP} 在 48~72 $\mu\text{g/mL}$ 时, CP 与 BSA 中 Tyr 残基的蛋白结合率($W(B)$)为 47.92%~58.00%, 游离药物率为 52.08%~42%, CP 与 BSA 中 Trp 残基的蛋白结合率($W(B)$)为 48.13%~65.05%, 游离药物率为 51.87%~34.95%, 此结果与 CP 临床用药的药代动力学数据基本一致,表明 CP 进入血浆后,在血浆中同时存在结合型和游离型药物,游离药物率在 40%~50%之间,表明 40%~50%的药物具有药物活性,50%~65%的药物与血浆蛋白结合成结合型药物,暂时失去药理活性,并存储于血液中,起到药库的作用,对于药物作用及其维持时间长短具有重要意义。

4. 总结

模拟生理条件下,采用同步荧光光谱, $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 及 $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ 时,研究了不同温度下 CP-BSA 体系的作用机制,同时进一步研究了 CP-BSA 体系的药物协同性和 CP 的蛋白结合率及 BSA 中 Tyr 和 Trp 残基的药物结合率。本研究对药物与蛋白质残基结合的作用机制及药代动力学的研究具有一定的意义,为药物在临床应用提供参考。

基金项目

大学生创新训练项目(No: S2023142234094, 2023142234029);
贵州师范学院大学生科研项目(No: 2023DXS018)。

参考文献

- [1] 李改霞. 光谱法研究头孢西丁钠、盐酸吡格列酮等药物与蛋白质的反应机理[D]: [硕士学位论文]. 保定: 河北大学, 2016.
- [2] 张天龙. 三种 β -内酰胺类抗生素与牛血清白蛋白的分子识别和相互作用研究[D]: [硕士学位论文]. 西安: 西北大学, 2014.
- [3] Wang, X.R., Zhu, X.J. and Liu, Y.M. (2010) Study of the Interaction between Tetramethrin and Bovine Serum Albumin by Synchronous Fluorescence Spectroscopy. *Chemical Research and Application*, **22**, 763-766.
- [4] 宋艳霞, 张娇娇, 江晓玲, 等. HPLC 法测定头孢匹林钠含量及有关物质[J]. 中国抗生素杂志, 2015, 40(9): 672-680.
- [5] 杜晓琳, 雍小兰, 黄娟, 等. 头孢匹林钠注射液的人体药代动力学研究[J]. 中国生化药物杂志, 2014, 34(3): 151-153.
- [6] Braunam, M. (1991) Photochem Technology. Oliveros, New York, 41.
- [7] Markarian, S.A. and Aznauryan, M.G. (2012) Study on the Interaction between Isoniazid and Bovine Serum Albumin by Fluorescence Spectroscopy: The Effect of Dimethylsulfoxide. *Molecular Biology Reports*, **39**, 7559-7567. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1590-3>
- [8] Makarska-Bialokoz, M. (2018) Interactions of Hemin with Bovine Serum Albumin and Human Hemoglobin: A Fluorescence Quenching Study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **193**, 23-32. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.11.063>
- [9] Zhang, Y.Q. and Liu, B.S.H. (2018) The Comparison between Commercial Spectral Method and Synchronous Fluorescence Spectrometry on Interaction of Cefoperazone Sodium with Bovine Transferrin. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, **37**, 503-508. (In Chinese)
- [10] Wang, Y.Q., Zhang, H.M., Zhang, G.C., et al. (2007) Studies of the Interaction between Paraquat and Bovine Hemoglobin. *International Journal of Biological Macromolecules*, **41**, 243-250. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2007.02.011>
- [11] Bojko, B., Sułkowska, A., Maciążek-Jurczyk, M., et al. (2010) The Influence of Dietary Habits and Pathological Conditions on the Binding of Theophylline to Serum Albumin. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **52**, 384-390. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.09.004>
- [12] Liu, B.S., Wang, J., Xue, C.L., et al. (2011) Spectroscopic Studies on the Interaction of Synthetic Food Colorants with Bovine Serum Albumin. *Zeitschrift für Physikalische Chemie*, **225**, 455-468. <https://doi.org/10.1524/zpch.2011.0070>

-
- [13] Ma, L.H., Liu, B.S.H., Wang, C.H.D., *et al.* (2018) The Interaction Mechanism of Nifedipine and Pepsin. *Monatshefte für Chemie-Chemical Monthly*, **149**, 2123-2130. <https://doi.org/10.1007/s00706-018-2269-9>
- [14] <https://www.dayi.org.cn/>