

文章编号: 1000-5862(2014)06-0639-06

# 光谱法研究头孢替唑钠与牛血清白蛋白相互作用

刘 里, 成飞翔

(曲靖师范学院化学化工学院, 云南 曲靖 655011)

**摘要:** 在优化的实验条件下, 运用荧光光谱和紫外-可见光谱法研究了头孢替唑钠(CS)与牛血清白蛋白(BSA)之间的相互作用. 实验结果表明: CS与BSA形成基态复合物从而猝灭BSA的内源性荧光, 猝灭机理为静态猝灭. 通过计算获得了二者在不同温度下的结合常数及结合位点数. 通过计算反应热力学参数值, 可推断CS与BSA作用力主要为静电引力, 生成自由能变 $\Delta G$ 为负值, 表明CS与BSA的作用过程是一个自发过程. 两者的结合部位主要位于亚螺旋域IIA中. Hill系数 $n_H$ 大于1, 表明CE有正协同作用. 同步荧光光谱表明CS对BSA构象不产生影响, 结合位点更接近于酪氨酸.

**关键词:** 头孢替唑钠; 荧光猝灭; 相互作用

**中图分类号:** O 657.3

**文献标志码:** A

## 0 引言

血清白蛋白是一类重要的运输性蛋白, 在生物体内的循环系统中含量非常丰富, 几乎占血清蛋白的60%<sup>[1-3]</sup>. 近年来采用光谱研究药物与血清白蛋白的相互作用已成为生命科学、化学、药学和临床医学领域的研究热点. 这对于了解生命过程、药物作用机制及药物分子设计等都具有重要作用<sup>[4-5]</sup>. 因结构上和血清白蛋白的相似性, 牛血清白蛋白(简称BSA)<sup>[6]</sup>被广泛地运用于与药物结合作用的研究. 头孢替唑钠(Ceftazole Sodium, 简称CS)是治疗败血症、肺炎、支气管炎、肺脓症、腹膜炎、肾盂肾炎、膀胱炎等的常用药<sup>[7]</sup>. 因此, 研究CS与BSA的相互作用对理解药物的作用机制具有重要意义. 以往研究药物与BSA相互作用主要集中在猝灭机理探讨上, 而本文在优化实验条件的情况下从更多角度研究了CS与BSA的结合反应, 除了常规的作用机理的研究, 还深入探讨了不同温度下两者的结合位点、结合力类型、结合部位、药物之间的协同性以及药物对蛋白质构象的影响等.

## 1 实验部分

### 1.1 主要实验仪器与试剂

F-4600 荧光光谱仪(日本日立公司), 狭缝宽度

10.0 nm, 光电倍增管负电压为-400 V; Cary50 型紫外-可见光谱仪(美国瓦里安技术中国有限公司); pH-3C 精密酸度计(上海虹益仪器仪表有限公司); DHG-9035A 型超级恒温水浴(上海一恒科技有限公司).

牛血清白蛋白(BSA, 上海楷样生物技术有限公司); 头孢替唑钠(质量分数为99.9%, 上海研生实业有限公司); 其它试剂为分析纯, 实验用水为超纯水.

### 1.2 试验方法

在10.0 mL 比色管中依次加入 $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的BSA溶液0.75 mL、 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的不同体积的头孢替唑钠溶液、 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 溶液2.0 mL(保持体系的离子强度)和pH值为7.4的Tris-HCl缓冲溶液2 mL, 用水释至刻度并摇匀. 放置60 min后, 分别在287、301、311 K温度下测定荧光光谱, 记录CS不存在与存在时体系的荧光强度 $F_0$ 和 $F$ . 其最大激发波长( $\lambda_{ex}$ )和最大发射波长( $\lambda_{em}$ )分别位于280 nm和332 nm处. 扫描 $\Delta\lambda = 15 \text{ nm}$ 和 $\Delta\lambda = 60 \text{ nm}$ 时体系的同步荧光光谱, 以不含CS和BSA的溶液作为参比, 记录CS-BSA体系的吸收光谱.

## 2 结果与讨论

### 2.1 反应条件的优化

#### 2.1.1 缓冲溶液类型、pH值及用量的优化 考察

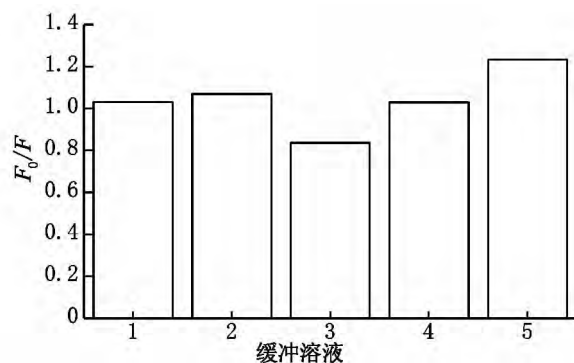
收稿日期: 2014-10-03

基金项目: 国家自然科学基金(21261019)资助项目.

作者简介: 刘 里(1982-), 女, 满族, 吉林省吉林市人, 讲师, 主要从事药物化学和分子发光学理论与应用研究.

浓度为  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH 值为 7.40 的  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ - $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -柠檬酸、Tris-HCl、硼酸-硼砂及  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -NaOH 缓冲溶液对反应体系的影响. 结果表明, 缓冲溶液对体系影响不大, 使用 Tris-HCl 时效果最好(见图 1).

在 Tris-HCl 缓冲范围(pH 值为 7.10 ~ 8.90)内, 分别考察了 pH 值和缓冲溶液用量对体系的影响. 结果见图 2. 结果表明: 当 pH 值为 7.35 ~ 8.50 时(图 2(A)), 缓冲溶液用量在 1.5 ~ 2.0 mL 范围内(图 2(B)), 体系的  $F_0/F$  达到最大且保持稳定, 因人体正常生理 pH 值范围为 7.35 ~ 7.45, 所以实验选择 pH 值为 7.40 的 Tris-HCl 溶液 2.0 mL 作为缓冲溶液.



1.  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ - $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 2. 硼酸-硼砂; 3.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -柠檬酸; 4.  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ -NaOH; 5. Tris-HCl.  $c(\text{BSA}) = 1.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $c(\text{CS}) = 2.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

图1 缓冲溶液的影响

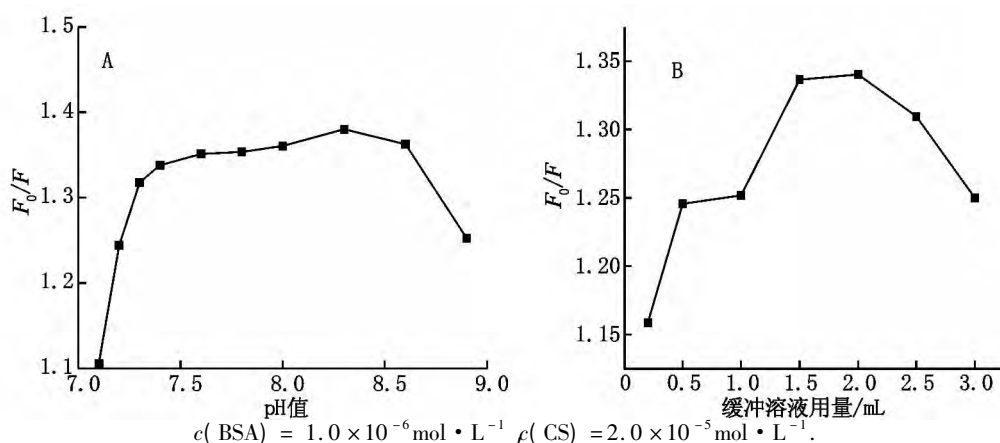


图2 pH值及缓冲溶液用量的影响

2.1.2 BSA 浓度的优化 考察 BSA 浓度在  $1.0 \times 10^{-7} \sim 1.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内对体系的荧光强度的影响(见图 3). 实验表明: BSA 浓度在  $5 \times 10^{-7} \sim 1.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内时,  $F_0/F$  基本保持稳定且最大. 因此实验选用  $7.5 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  作为反应浓度.

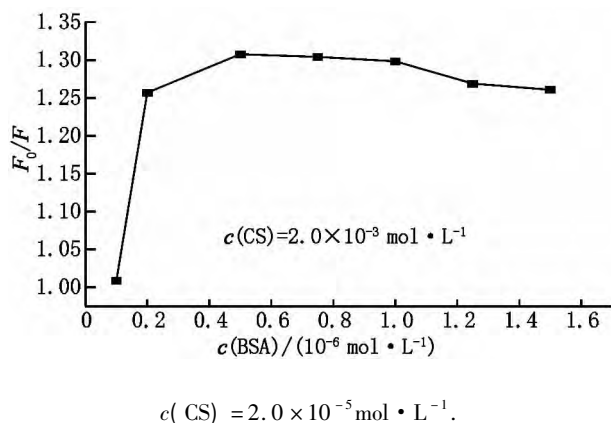


图3 BSA 浓度的影响

2.1.3 试剂加入顺序的优化 实验分别研究了 4

种加入顺序. 结果表明试剂加入顺序对体系的影响不大, 实验选择  $\text{BSA} \rightarrow \text{CS} \rightarrow \text{NaCl} \rightarrow \text{Tris-HCl}$  的加入顺序.

2.1.4 反应时间的优化 在以上优化条件下, 考察反应时间对体系的影响, 结果见图 4. 结果表明, CS 与 BSA 需要 60 min 左右完成, 4 h 内基本稳定, 故以下溶液配制后放置 60 min 后进行荧光测量.

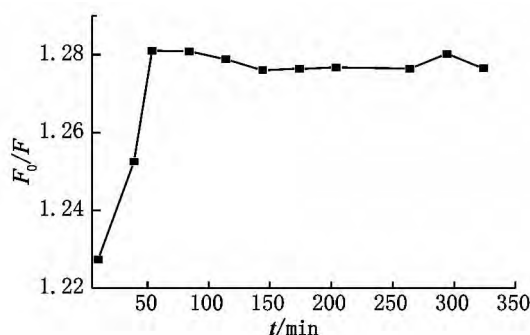


图4 反应时间的影响

## 2.2 荧光猝灭光谱

在实验优化的条件下, 考察 CS 对 BSA 荧光光

谱的影响,结果见图 5。CS 在测量波段没有荧光,而 BSA 的荧光较强,并在  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}} = 280/340 \text{ nm}$  处,当 CS 加入到 BSA 之后,虽然  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}$  几乎未发生变化,但是其荧光强度明显随着 CS 浓度的增加而逐渐减弱,表明 CS 能猝灭 BSA 的荧光,CS 与 BSA 之间存在着相互作用。

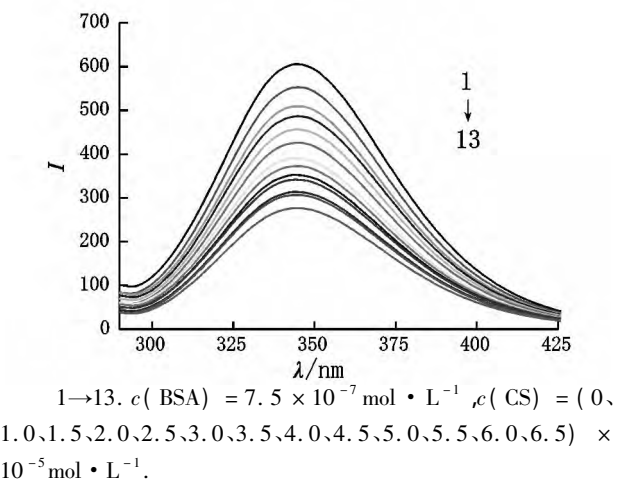


图 5 CS 对 BSA 的猝灭光谱

2.3 猝灭类型的判断

引起荧光猝灭的原因很多,但通常分为静态猝灭和动态猝灭<sup>[8-12]</sup>。常用温度的改变而引起体系的变化来确定猝灭类型。在动态猝灭中分子扩散起主导,猝灭常数会随着温度的升高而增大;对于静态猝

灭,因有新物质生成,稳定性起主导作用,温度越高,猝灭常数反而越小。猝灭过程遵循 S-V 方程:  $F_0/F = 1 + K_{\text{SV}}[C] = 1 + K_q\tau_0[C]$ , 其中  $K_{\text{SV}}$  为猝灭常数;  $K_q$  为速率常数(动态猝灭时最大值约为  $2 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ );  $\tau_0$  为荧光体平均寿命,一般为  $10^{-8} \text{ s}$  数量级;  $[C]$  为 CS 浓度。按照实验方法在 287 K、301 K 和 311 K 时以  $F_0/F$  对  $[C]$  作图(见图 6)。根据  $K_q = K_{\text{sv}}/\tau_0$  可求出不同温度下的  $K_q$  值,结果列于表 1 中。表 1 所有温度下的  $K_q$  值比动态猝灭最大速率常数大 2 个数量级,说明 CS 对 BSA 的猝灭不属于动态猝灭。由图 6 可知,3 个温度下的 Stern-Volmer 曲线均呈良好的线性关系,且随着温度的升高,直线斜率即  $K_{\text{sv}}$  减小,正好与静态猝灭机理相吻合。

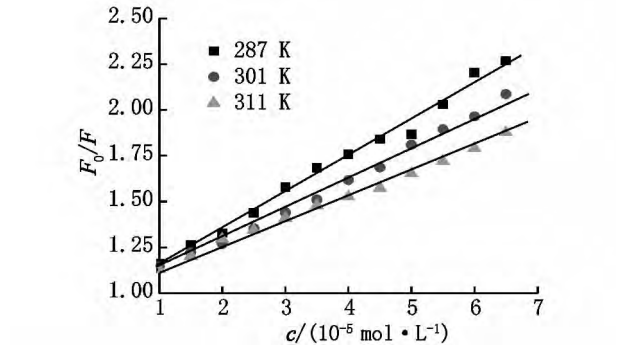


图 7 3 个不同温度下的 S-V 图

表 1 S-V 线性回归方程的相关参数

pH 值	T/K	$K_{\text{SV}}/(10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$K_q/(10^{12} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1})$	r
7.4	287	1.994 4	1.994 4	0.995 2
	301	1.714 9	1.714 9	0.997 4
	311	1.299 8	1.299 8	0.998 3

若 CS 对 BSA 为静态猝灭,应符合 L-B 方程<sup>[13-15]</sup>:  $(F_0 - F)^{-1} = F_0^{-1} + (K_{\text{LB}}F_0[C])^{-1}$ , 其中  $K_{\text{LB}}$  为静态猝灭结合常数。  $(F_0 - F)^{-1} - [C]^{-1}$  作不同温度下的 L-B 曲线,结果见图 7。由图 7 可知,随着温度的升高,斜率逐渐增大,则  $K_{\text{LB}}$  逐渐下降,这与因静态猝灭方式而形成的复合物随温度升高而越不稳定的作用机理相符。计算  $K_{\text{LB}}$  值列于表 2 中,表 2 中 3 个温度下的  $K_{\text{LB}}$  值都在  $10^3$  数量级以上,表明 CS 与 BSA 由于发生静态猝灭而结合力较强。

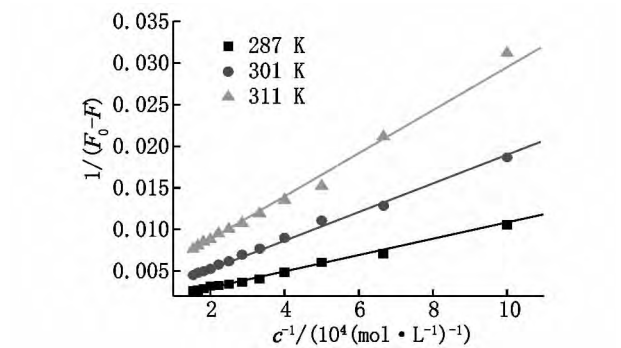


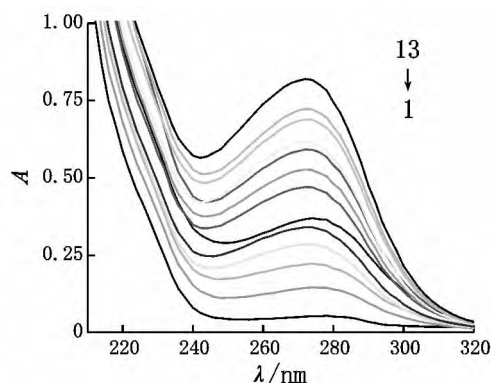
图 7 不同温度下 BSA-CS 的 L-B 曲线

表 2 L-B 线性回归方程的相关参数

T/K	L-B 方程	r	$K_{\text{LB}}/(\text{L} \cdot \text{mol}^{-1})$
287	$(F_0 - F)^{-1} = 9.0 \times 10^{-8} [C]^{-1} + 0.012$	0.996 2	$3.858 \times 10^4$
301	$(F_0 - F)^{-1} = 2.0 \times 10^{-7} [C]^{-1} + 0.021$	0.998 1	$1.179 \times 10^4$
311	$(F_0 - F)^{-1} = 3.0 \times 10^{-7} [C]^{-1} + 0.032$	0.998 0	$4.953 \times 10^3$

紫外吸收光谱也是一种区分猝灭机理的重要方法,固定 BSA 浓度不变,改变 CE 的浓度,以相应浓

度的 CS 为参比,在紫外-可见光谱仪上对体系进行紫外光谱扫描,可得到 CS 与 BSA 结合后的紫外吸收光谱图,如图 8 所示.实验表明,CS 的加入使 BSA 中苯环上的  $\pi-\pi^*$  跃迁引起的特征吸收峰从 276 nm



$c(\text{BSA}) = 7.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $c(\text{CS}) = (0, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5) \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

图 8 CS-BSA 的紫外-吸收光谱

蓝移到 264 nm,吸收强度也随 CS 浓度的加大而明显增加. CS 的加入引起 BSA 紫外吸收光谱的变化这一现象,说明 CS 与 BSA 间发生了反应,有新物质生成,更进一步证明两者之间的相互作用机理属于静态猝灭机理.

## 2.4 结合常数和结合位点数

如药物小分子与 BSA 大分子存在  $n$  个等同且独立的结合位点,它们相互作用的关系符合  $\lg [(F_0 - F)/F] = \lg K_b + n \lg [C]$  公式<sup>[13-15]</sup>. 分别在 287 K、301 K、311 K 温度下,以  $\lg (F_0 - F)/F$  对  $\lg [C]$  作图,由直线的斜率和截距可求出 CS 与 BSA 不同温度下的结合常数  $K_b$  及结合位点数  $n$ ,结果见表 3. 由表 3 可知,3 个温度下的  $n$  都约等于 1,表明 CS 与 BSA 结合后可形成一个结合位点. 随着温度增加  $K_b$  和  $n$  值减少的程度不大,表明 CS 与 BSA 的相互作用对温度变化不是很敏感. 总之,温度的提升不利于血清白蛋白携带着 CS 在体内进行运转、贮存和分配.

表 3 CS-BSA 的  $K_b$  和  $n$

$T/\text{K}$	双对数方程	$K_b / (10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1})$	$n$	$r$
287	$\lg [(F_0 - F)/F] = 4.6498 + 1.0683 \lg [C]$	4.4648	1.0683	0.9972
301	$\lg [(F_0 - F)/F] = 4.5449 + 1.0810 \lg [C]$	3.5067	1.0810	0.9977
311	$\lg [(F_0 - F)/F] = 4.0502 + 0.9827 \lg [C]$	1.1226	0.9827	0.9978

## 2.5 热力学常数及结合力类型

静电引力、疏水作用力、氢键和范德华力等是药物小分子与蛋白质大分子的主要结合作用力. 把结合反应的焓变  $\Delta H$  看作是一个常数(温度变化范围不大时)<sup>[13-17]</sup>. 根据热力学公式计算 287 K、301 K 和 311 K 温度下 CS 与 BSA 结合反应的  $\Delta H$ 、熵变  $\Delta S$

及吉布斯自由能变  $\Delta G$ , 结果见表 4. 根据 P. D. Ross 等总结出的规则判断,由表 4 可得,  $\Delta G < 0$  表明 BSA 与 CS 的反应能自发进行;  $\Delta H < 0$ , 表明反应为放热反应;  $\Delta S > 0$ , 表明其过程是熵增加的自发过程;  $\Delta H < 0$  且  $\Delta S > 0$ , 表明静电作用力是 CS 与 BSA 的主要结合作用力.

表 4 不同温度下 CS 与 BSA 相互作用的热力学参数

$T/\text{K}$	$\Delta H / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta G / (\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1})$	$\Delta S / (\text{J} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1})$
287	-16.77	-25.547	30.57
301	-16.77	-26.189	31.28
311	-16.77	-24.114	23.61

## 2.6 结合位置的确定

与人血清白蛋白相似,BSA 含有 3 个  $\alpha$ -螺旋域(I ~ III). 每个  $\alpha$ -螺旋域包含 2 个亚螺旋域 A 和 B. 为确定药物小分子与 BSA 具体结合的位置,考察在两者的作用过程中色氨酸和酪氨酸残基的实际参与情况,应用 A. Sulkowska 等<sup>[18-20]</sup>提出的方法,即比较波长在 280 nm 和 295 nm 激发时 CS-BSA 体系荧光程度的降低变化. 由图 9 可知,在波长在 280 nm 和 295 nm 激发下,CS 对 BSA 的猝灭程度曲线没有

重叠,说明色氨酸和酪氨酸残基都参与其中,对比这 2 种波长下的荧光猝灭程度可知,在 280 nm 激发时降低程度更大些,这一现象说明在 CS 与 BSA 的结合过程中,结合位点主要位于亚螺旋域 II A.

## 2.7 药物协同性

BSA 具有多重结合部位,药物与 BSA 结合时,BSA 各结合部位之间存在相互影响作用,这种相互影响作用称为药物的协同作用,可用 Hill 方程<sup>[18-20]</sup>进行分析:  $\lg D / (1 - D) = \lg K_H + n_H \lg [C]$  其中  $H$  为

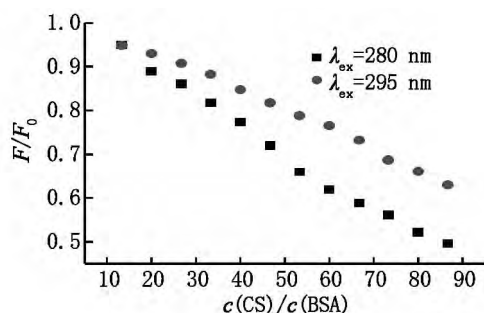


图9  $\lambda_{em}$  为 280 nm 和 295 nm 时 CS-BSA 的荧光猝灭曲线  
结合饱和分数  $K_H$  为结合常数  $n_H$  为 Hill 系数. 在荧光实验中:  $D/(1-D) = B/(B_m - B)$ , 其中  $B = (F_0 - F)/F_0$ ;  $1/B_m$  是  $1/B$  对  $1/[C]$  作图的截距. CS-BSA 的  $n_H$  值的计算结果见表 5. 由表 5 可知, 3 个温度下的  $n_H$  都大于 1, 表现为正协同作用, 说明 CS 与 BSA 结合过程中, 随着配体 CS 不断地结合到位点, 使得后继配体对 BSA 的亲水性增加, 即前一个药物分子结合到 BSA 位点上后, 对后一个药物分子与 BSA 的结合起到促进作用. 随着温度的变化, 虽然  $n_H$  变化不大, 但也随温度升高而降低, 说明温

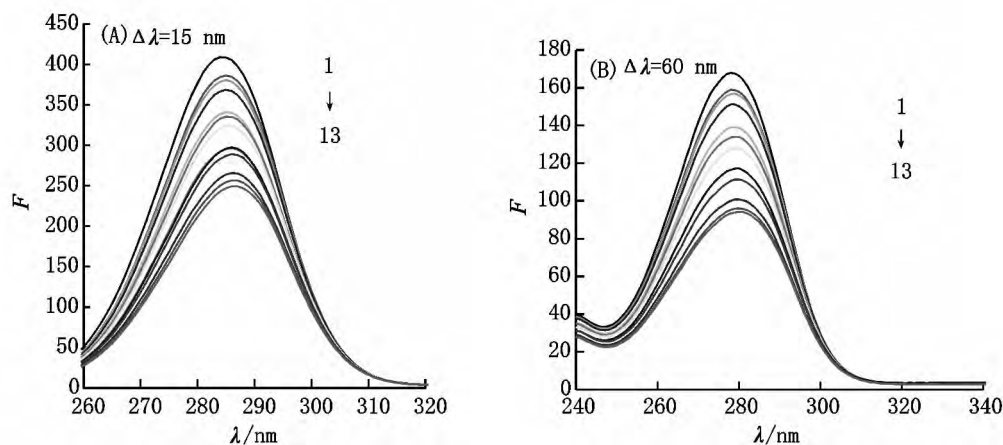
度的提升对 CS 药物小分子之间的协同作用不利.

表 5 不同温度下的  $n_H$  值

$T/K$	$n_H$	$r$
287	1.232 6	0.996 5
301	1.136 7	0.996 9
311	1.004 1	0.998 0

## 2.8 CS 对 BSA 构象的影响

蛋白质的构象变化通常用同步荧光光谱来分析. 根据  $\lambda_{em}$  的变化来确定其荧光猝灭主要由何种氨基酸残基起主导作用, 而且氨基酸残基的  $\lambda_{em}$  移动方向与所处的疏水性也紧密相关.  $\Delta\lambda = 60$  nm 和  $\Delta\lambda = 15$  nm 分别显示色氨酸和酪氨酸残基的荧光特征. 在  $\Delta\lambda = 15$  nm 和  $\Delta\lambda = 60$  nm 条件下测 CS 加入 BSA 之后的同步荧光光谱见图 10. 由图 10 可知, 随 CS 浓度的增大, 这 2 种氨基酸残基的  $\lambda_{em}$  几乎没有发生移动, 说明 CS 的加入不改变 BSA 的构象. 酪氨酸的猝灭程度大于色氨酸, 表明 CS 与 BSA 相结合的位点偏向于酪氨酸.



$c(\text{BSA}) = 7.5 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $c(\text{CS}) = (0, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 5.5, 6, 6.5) \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

图 10 CS 猝灭 BSA 的同步荧光光谱图

## 3 结论

用荧光和紫外光谱法推断 CS 对 BSA 荧光产生静态猝灭, CS 和 BSA 之间的作用力类型主要为静电作用力. 测得 287 K、301 K 和 311 K 的  $K_b$ 、 $n$  和  $n_H$ . CS 与 BSA 可形成一个结合位点, 表明 CS 可被 BSA 运输.  $n_H > 1$ , 表明 CS 对结合反应产生正协同作用, 即 CS 加入使 BSA 的亲水性增强, 有利于后续 CS 与 BSA 的结合. 结合部位在 BSA 的亚螺旋域 II A 中. 同步荧光光谱表明 CS 几乎不对 BSA 构象产生影响. 结合位点靠近酪氨酸残基. 该研究结果为了了解 CS 在体内的运输和代谢过程、毒性机制提供了重要信息.

## 4 参考文献

- [1] 申泮文, 徐辉碧, 庞代文. 化学生物学与生物技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2005: 190-191.
- [2] 阎龙飞, 孙之荣. 蛋白质分子结构 [M]. 北京: 清华大学出版社, 1999: 159-160.
- [3] 汪世龙. 蛋白质化学 [M]. 上海: 同济大学出版社, 2012: 78-83.
- [4] 薛春霞, 董社英. 药物分子与血清白蛋白相互作用的研究进展 [J]. 广东化工, 2013, 40(2): 148-149.
- [5] 王芳, 裴明砚, 唐乾, 等. 药物与血清白蛋白相互作用中荧光光谱学的研究进展 [J]. 大连大学学报: 自然科学版, 2009, 3(3): 39-43.
- [6] 倪永标, 黄振钟, 陈信忠. 8Q5SAC 同步荧光猝灭法测定

- 牛血清白蛋白 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2010, 34(3): 237-239.
- [7] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(二部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2012: 231.
- [8] Lakowicz J R. Principles of fluorescence spectroscopy [M]. 3rd Ed. New York: Springer Press, 2006: 291.
- [9] 许金钩, 王尊本. 荧光分析法 [M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2006: 64-70.
- [10] 陈国珍, 黄贤智, 郑朱梓, 等. 荧光分析法 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 1990: 64-86.
- [11] 杨国平, 杨峰. 光谱法研究木糖醇与人血清白蛋白的相互作用 [J]. 广西师范大学学报: 自然科学版, 2014, 32(1): 32-35.
- [12] 刘正清, 殷鹏飞, 龚会平, 等. 硒化锌量子点作探针荧光法检测农药敌磺钠 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2012, 34(3): 71-75.
- [13] 刘里, 彭洪生, 伏云红. 荧光光谱法研究头孢孟多酯与牛血清白蛋白的相互作用 [J]. 中国测试, 2014, 40(3): 64-67.
- [14] 严赞开, 陈冬丹. 二氢杨梅素铜配合物的合成及其与牛血清白蛋白的相互作用 [J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2009, 33(2): 175-179.
- [15] 刘里. 光谱法研究马来酸氯苯那敏与牛血清白蛋白的相互作用 [J]. 西北师范大学学报: 自然科学版, 2014, 55(5): 44-46.
- [16] Cyril L, Earl J K, Sperry W M. Biochemists handbook [M]. London: Epon Led Press, 1961: 83-84.
- [17] Ross P D, Subramanian S. Thermodynamic of protein association reactions: Forces contributing to stability [J]. Biochemistry, 1981, 20(11): 3096-3102.
- [18] 刘保生, 王晶. 头孢噻肟钠和氯霉素与牛血清白蛋白相互作用的荧光光谱分析 [J]. 发光学报, 2011, 32(6): 628-635.
- [19] Sulkowska A, Bojko B, Rownicka J, et al. Paracetamol and-cytarabine binding competition in high affinity binding sites of transporting protein [J]. Mol Struct, 2006, 26(9): 792-793.
- [20] Bojko B, Sulkowska A, Maciazek-Jurczyk M, et al. The Influence of dietary habits and pathological conditions on the binding of theophylline to serum albumin [J]. Pharm Biomed Anal, 2010, 52(3): 384-390.

## The Study on Interaction between Ceftezole Sodium and Bovine Serum Albumin by Spectrometry

LIU Li, CHENG Fei-xiang

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Qujing Normal University, Qujing Yunnan 655011, China)

**Abstract:** Under the optimal conditions, the interaction of ceftezole sodium (CS) with bovine serum albumin (BSA) was investigated by fluorescence spectrometry and ultraviolet-visible light absorption spectrometry. The experiments demonstrated that the CS quenched the intrinsic fluorescence of BSA by forming CS-BSA complex. The mechanism of the fluorescence quench was static quenching. The binding constants and the numbers of binding site at different temperatures were calculated. The main binding forces were concluded as electrostatic forces from the calculated values of the thermodynamic parameter. The process of binding was spontaneous because that Gibbs free energy change was negative. The primary binding site for CS was located at sub-domain II A of BSA. The values of Hill's coefficients were more than 1, which indicated that there was some positive cooperative effect. The effect of CS on the conformation of BSA was also studied by using synchronous fluorescence spectroscopy. Studies utilizing synchronous spectra showed that the conjugation reaction between CS and BSA would not affect the conformation of BSA. Synchronous fluorescence indicated that the binding site of CS and BSA was near by tyrosine residue.

**Key words:** ceftezole sodium; fluorescence quenching; interaction

(责任编辑: 刘显亮)