

## ТУШЕНИЕ ТРИПТОФАНОВОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА ПОД ДЕЙСТВИЕМ АБИРАТЕРОНА АЦЕТАТА

Сывороточный альбумин представляет собой глобулярный белок плазмы крови с единственной полипептидной цепью, состоящей из 585 аминокислотных остатков с молекулярной массой 66,5 кДа. Способность молекулы сывороточного альбумина человека (САЧ) связывать различные лиганды определяет одну из основных функций этого белка – транспорт гидрофобных эндогенных и экзогенных соединений к органам и тканям.

Наличие остатка триптофана (Trp214) в аминокислотной последовательности САЧ позволяет использовать метод флуоресцентной спектроскопии для характеристики структурных изменений белковой молекулы [1]. Тушение собственной флуоресценции белков применяют для исследования эффективности связывания низкомолекулярных соединений с белковыми макромолекулами [2].

**Цель работы** – определение механизма тушения флуоресценции САЧ при взаимодействии с ним абиратерона ацетата.

Абиратерона ацетат (рис. 1) – противоопухолевый препарат для лечения рака предстательной железы. Абиратерона ацетат *in vivo* превращается в абиратерон, который является ингибитором биосинтеза андрогенов [3].

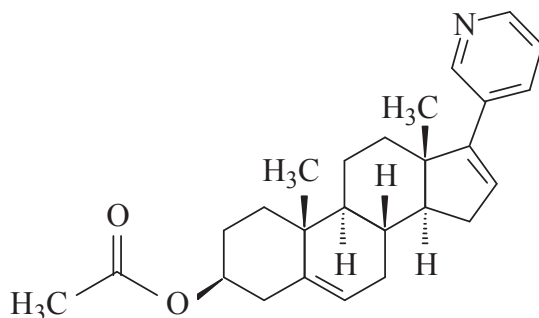
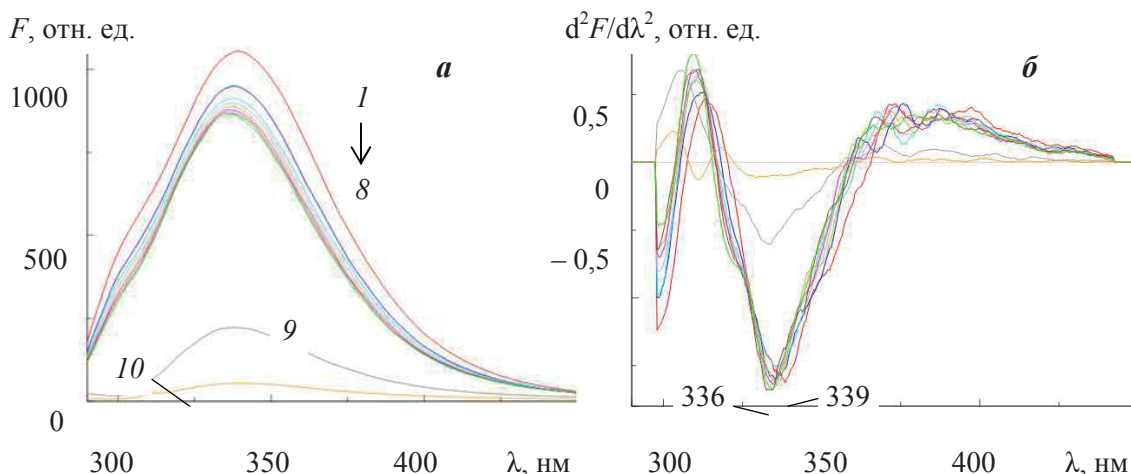


Рисунок 1 - Химическая структура абиратерона ацетата

**Экспериментальная часть.** В работе использовали раствор САЧ ( $7,5 \times 10^{-6}$  М) в фосфатном буферном растворе ( $1,0 \times 10^{-3}$  М; рН 7,5) и раствор абиратерона ацетата ( $1,0 \times 10^{-3}$  М) в метаноле. Спектры флуоресценции регистрировали в диапазоне длин волн 290–450 нм при  $\lambda_{\text{возб}} = 280$  нм на спектрофлуориметре FP-8500 (Jasco,

Япония). Измерения проводили при температурах 25°C и 35°C.

**Результаты и их обсуждение.** При добавлении к раствору САЧ абиратерона ацетата наблюдали тушение собственной флуоресценции белка (рис. 2, а). Анализ вторых производных спектров флуоресценции показал, что под действием абиратерона ацетата происходит смещение максимума полосы испускания в область меньших длин волн с 339 нм до 336 нм (рис. 2, б).



**Рисунок 2 - Спектры флуоресценции (а) и их вторые производные (б) при 25°C:**

(1) –  $7,5 \times 10^{-6}$  М САЧ; (2-8) –  $7,5 \times 10^{-6}$  М САЧ в присутствии абиратерона ацетата в концентрациях 0,8; 1,2; 1,6; 2,0; 2,4; 2,8;  $3,2 \times 10^{-5}$  М; (9 и 10) – 3,2 и  $0,8 \times 10^{-5}$  М абиратерона ацетата в фосфатном буферном растворе

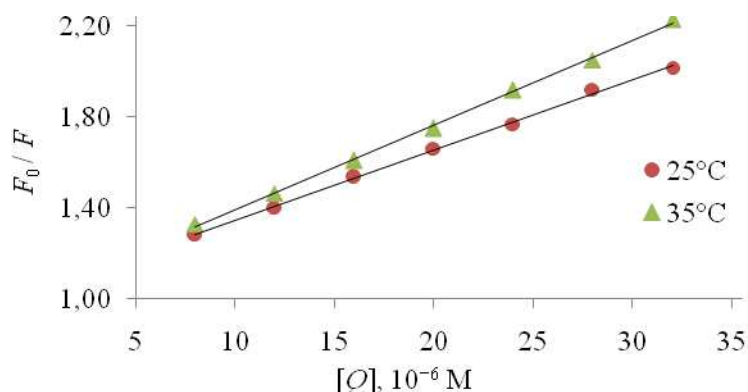
Анализ механизма тушения флуоресценции САЧ проводили в соответствии с уравнением Штерна-Фольмера [4]:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{SV}[Q] = 1 + k_q\tau_0[Q]$$

где  $F_0$  и  $F$  – интенсивность флуоресценции (с учетом эффекта внутреннего фильтра) в отсутствии и присутствии тушителя;  $K_{SV}$  – константа тушения Штерна-Фольмера;  $[Q]$  – концентрация тушителя;  $k_q$  – константа скорости тушения для бимолекулярной реакции;  $\tau_0$  – среднее время жизни флуорофора в возбужденном состоянии в отсутствии тушителя,  $\tau_0 = 6,896 \pm 0,116$  нс [5].

На рис. 3 представлены графики Штерна-Фольмера, линейная зависимость которых указывает на существование одного типа тушения (динамического или статического). Полученные значения  $k_q(4,49 \pm 0,24 \times 10^{12} \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  при 25°C и  $5,39 \pm 0,19 \times 10^{12} \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$  при 35°C) на два порядка превышают константу максимальной скорости динамического тушения флуоресценции ( $2 \times 10^{10} \text{ М}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$ ), что свидетель-

ствуется о статическом механизме тушения [4].



**Рисунок 3 - Зависимость интенсивности тушения флуоресценции САЧ от концентрации абиратерона ацетата в координатах Штерна-Фольмера**

**Закключение.** Взаимодействие абиратерона ацетата с САЧ приводит к образованию комплекса, в котором происходит тушение триптофановой флуоресценции со смещением максимума полосы испускания, что обусловлено конформационными изменениями структуры белка.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Yang F., Zhang Y., Liang H. Interactive association of drugs binding to human serum albumin // International Journal of Molecular Sciences. 2014. Vol. 15, no. 3. P. 3580–3595.
2. Van de Weert M., Stella L. Fluorescence quenching and ligand binding: a critical discussion of a popular methodology // Journal of Molecular Structure. 2011. Vol. 998, no. 1–3. P. 144–150.
3. Abiraterone acetate in the treatment of prostate cancer / A. Thakur [et al] // Biomedicine and Pharmacotherapy. 2018. Vol. 101. P. 211–218.
4. Elucidating the interaction of letrozole with human serum albumin by combination of spectroscopic and molecular modeling techniques / N. Bijari [et al] // Research in Pharmaceutical Sciences. 2018. Vol. 13, no. 4. P. 304–315.
5. Amiri M., Jankeje K., Albani J. R. Characterization of human serum albumin forms with pH. Fluorescence lifetime studies // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2010. Vol. 51, no. 5. P. 1097–1102.