

**СПЕКТРОФЛУОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ
ПАРАМЕТРОВ СВЯЗЫВАНИЯ ЛИДОКАИНА С АЛЬБУМИНОМ**

Сывороточный альбумин человека (САЧ) является основным белком плазмы крови. Способность САЧ к обратимому связыванию гидрофобных и амфифильных соединений определяет одну из наиболее важных его функций – транспорт низкомолекулярных веществ по кровяному руслу к тканям-мишеням или местам их биотрансформации. При этом образование комплекса сопровождается конформационными изменениями структуры белковой молекулы и приводит к тушению ее триптофановой флуоресценции [1].

Цель исследования – определить параметры связывания местного анестетика лидокаина с альбумином методом флуоресцентной спектроскопии.

В работе использовали 4 мкМ САЧ в 25 мМ трис-НСl буферном растворе (рН 7,4). Спектры флуоресценции белка без добавления и в присутствии лидокаина (0,09, 0,19, 0,28, 0,38, 0,47, 0,57 и 0,66 мМ) регистрировали на спектрофлуориметре FP-8500 (Jasco, Япония) в диапазоне длин волн 290–450 нм при $\lambda_{\text{возб}} = 280$ нм (ширина щелей 2,5 нм). Термостатирование кювет (20°C и 30°C) осуществляли с помощью системы Пельтье.

Механизм тушения флуоресценции определяли по уравнению Штерна-Фольмера [2]:

$$\frac{F_0}{F} = 1 + K_{\text{sv}}[Q], \quad (1)$$

где F_0 и F – интенсивность флуоресценции в отсутствие и присутствии лидокаина; K_{sv} – константа тушения Штерна-Фольмера; $[Q]$ – концентрация лидокаина.

Параметры связывания рассчитывали по уравнению Штерна-Фольмера в логарифмическом виде [2]:

$$\log \left\{ \frac{F_0 - F}{F} \right\} = \log K_b + n \log [Q], \quad (2)$$

где K_b – константа связывания; n – количество мест связывания.

Анализ спектров флуоресценции показал, что при добавлении лидокаина к раствору САЧ происходит тушение флуоресценции со смещением максимума полосы испускания в область меньших длин волн с 339 нм до 337 нм. Гипсохромный сдвиг, вызванный увеличением гидрофобности микроокружения остатков триптофана, указывает на изменения пространственного строения белковой молекулы.

Количественные характеристики взаимодействия лидокаина с альбумином при 20°C и 30°C представлены в таблице.

Таблица – Количественные характеристики взаимодействия лидокаина с белком

t, °C	$K_{\text{sv}}, \text{M}^{-1}$	K_b, M^{-1}	n
20	$141,2 \pm 2,7$	$37,5 \pm 0,7$	$0,811 \pm 0,004$
30	$114,5 \pm 4,0$	$305,2 \pm 17,9$	$1,137 \pm 0,005$

Как видно из таблицы, повышение температуры приводит к уменьшению K_{sv} , что свидетельствует о статическом тушении флуоресценции. Однако низкие значения K_b (менее чем 10^3 M^{-1}) указывают на образование слабого комплекса [2]. При этом установлено, что белковая молекула имеет только одно место связывания для лидокаина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Research on the interaction mechanism and structural changes in human serum albumin with hispidin using spectroscopy and molecular docking / S.-H. Fan [et al.] // Molecules. – 2024. – Vol. 29, № 3. – Article ID 655. – 16 p.
2. Interaction of α -cembrenediol with human serum albumin based on spectroscopic and computational analyses / X.-K. Su [et al.] // Journal of Spectroscopy. – 2024. – Vol. 2024. – Article ID 9923310. – 13 p.