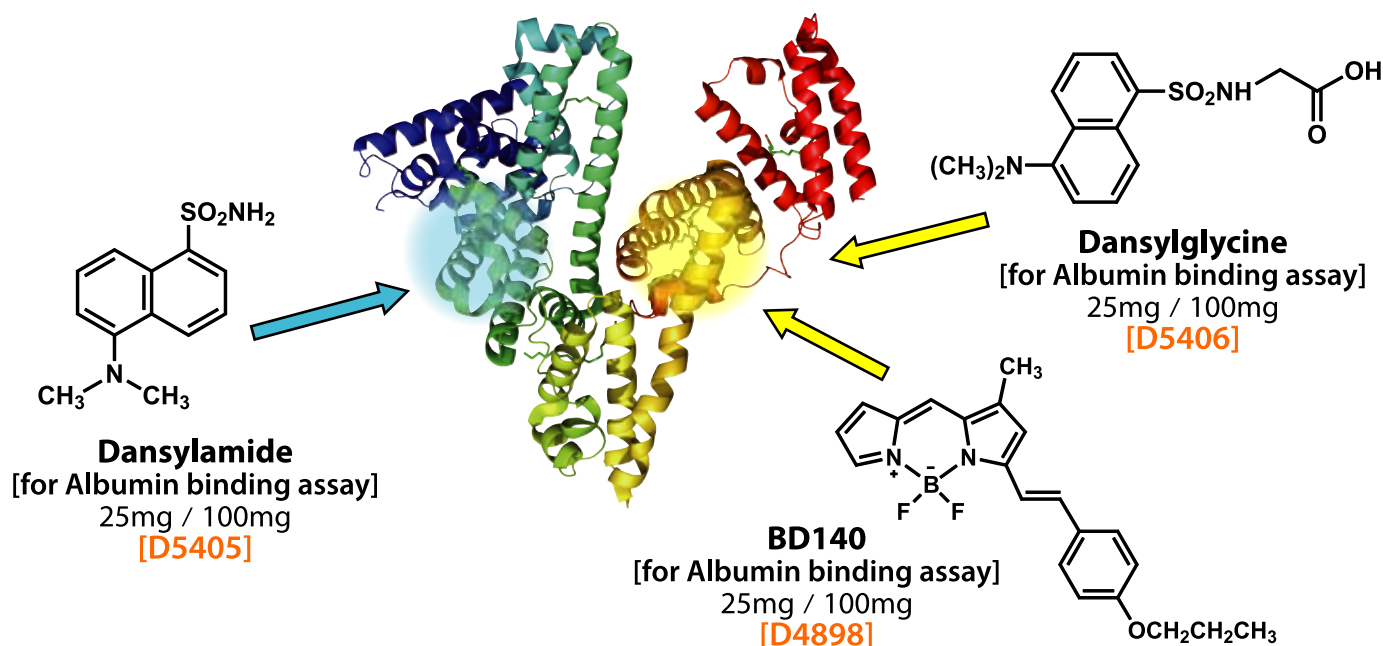


# 用于表征HSA上两个 特异性药物结合位点的荧光探针

是新药开发，R&D以及代谢毒性测定的有力工具



## 优点

- 可检测HSA上的药物结合位点I和II
- 可实现简便快速分析

人血清白蛋白(HSA)上有两个主要的结合位点(I: 蓝, II: 黄)可以与多种药物结合, 其对药代动力学和药理作用有重大影响。荧光探针丹酰胺[D5405]和丹磺酰甘氨酸[D5406]可以选择性的分别与位点I和II相互作用<sup>1,2)</sup>。BD140[D4898]也可以特异性的与药物结合位点II结合<sup>3)</sup>。荧光滴定分析发现, 由于药物的竞争取代, 探针的荧光发生了变化。通过分析这些试剂的荧光探针取代的模式, 可以对两个特异性药物结合位点进行识别。由此可见, 这些试剂可用于表征HSA上的结合位点。

- 参考文献 1) G. Sudlow, D. J. Birkett, D. N. Wade, *Mol Pharmacol.* **1975**, *11*, 824.  
<https://molpharm.aspetjournals.org/content/11/6/824>
- 2) G. Sudlow, D. J. Birkett, D. N. Wade, *Mol. Pharmacol.* **1976**, *12*, 1052.  
<https://molpharm.aspetjournals.org/content/12/6/1052>
- 3) J. C. Er, M. Vendrell, M. K. Tang, D. Zhai, Y.-T. Chang, *ACS Comb. Sci.* **2013**, *15*, 452.  
<https://doi.org/10.1021/co400060b>

# 用于表征HSA上两个特异性药物结合位点的荧光探针

## 常见应用

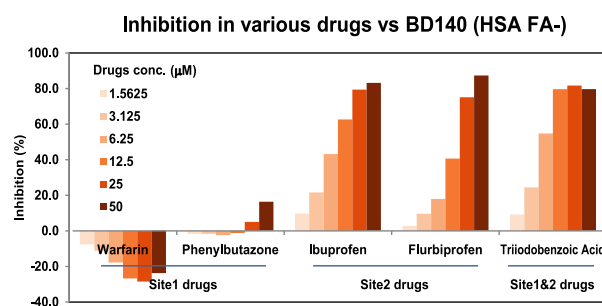
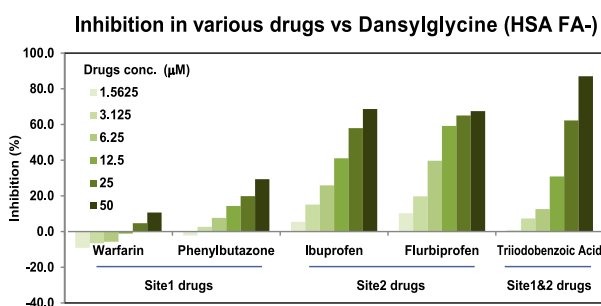
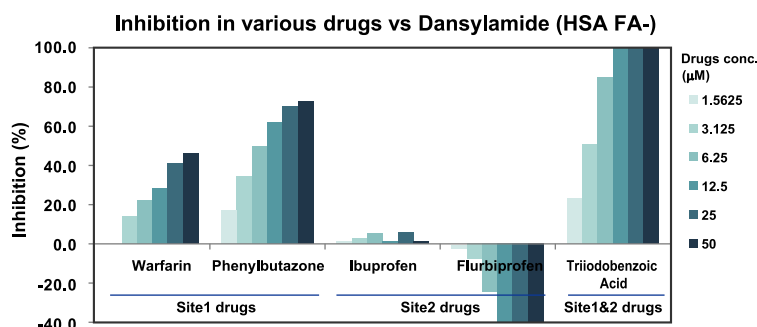
### [试剂]

- 1% DMSO于10mM磷酸盐缓冲液中 (pH 7.2-7.5)
- 人血清白蛋白 (HSA) (无脂肪酸)
- 多种样品化合物
- 可与HSA结合的荧光探针：丹酰胺[D5405]，丹磺酰甘氨酸[D5406]，BD140 [D4898]

### [过程]

- 1) 制备HSA，荧光探针，以及多种样品。
  - 2) 将每种溶液置于黑色96孔板中用于荧光检测(例如各50 $\mu$ L)。
  - 3) 轻轻地搅拌，然后在室温下(20-25 $^{\circ}$ C)遮光静置30min。
  - 4) 利用读板仪检测荧光
- \*作为阳性对照，常将华法林用于药物结合位点I，布洛芬用于药物结合为点II。  
\*表面活性剂可能会影响反应，建议考虑应用条件。  
\*使用丹磺酰甘氨酸和BD140时，推荐应用不含脂肪酸的HSA。(请参考以下数据)

## 应用



### <检测条件>

缓冲液：1%DMSO于磷酸盐缓冲液中(pH 7.2-7.5), HSA(无脂肪酸)：5 $\mu$ M (50 $\mu$ L/孔)，药物：各浓度 (50 $\mu$ L/孔)，每个荧光探针：80 $\mu$ M (50 $\mu$ L/孔)，培养：20-25 $^{\circ}$ C条件下静置30 min，检测：读板仪；激发波长=365 nm，发射波长=480 nm (丹酰胺和丹磺酰甘氨酸)或585 nm (BD140)。

### [检测结果]

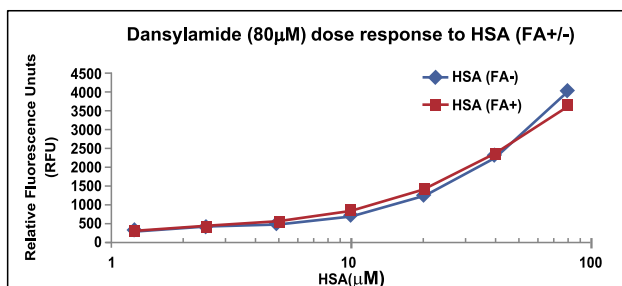
- 丹酰胺[D5405]与HSA(无脂肪酸)的结合  
与药物结合位点I结合的华法林，保泰松，以及三碘苯甲酸被抑制。另一方面，与药物结合位点II结合的布洛芬和氟比洛芬完全或者部分不被抑制。
- 丹磺酰甘氨酸[D5406]和BD140[D4898]与HSA(无脂肪酸)的结合  
与药物结合位点I结合的华法林和保泰松几乎未被抑制。然而，与药物结合位点II结合的布洛芬，氟比洛芬，以及三碘苯甲酸被抑制。

以上结果表明，利用丹酰胺可以确认一种药物是否与HSA上的药物结合位点I相结合。利用丹磺酰甘氨酸和BD140，可以确认药物是否与HSA上的药物结合位点II相结合。

# 用于表征HSA上两个特异性药物结合位点的荧光探针

参考信息：各荧光探针对HSA的活性

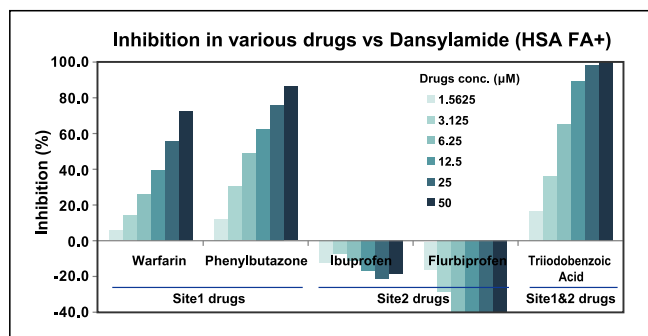
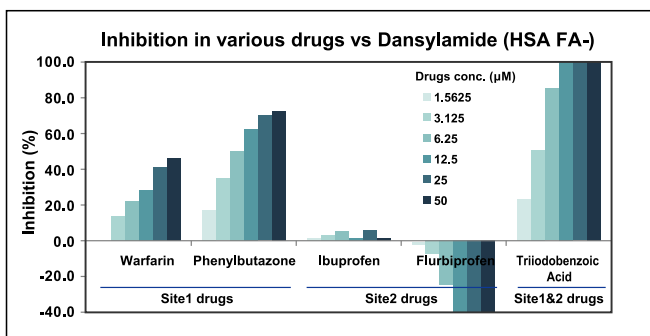
HSA级别不同，各荧光探针对HSA的活性也不同。



丹酰胺 [D5405]，用于药物结合位点I的荧光探针，对无脂肪酸(FA-)HSA（蓝色曲线）和生化级(FA+)HSA（红色曲线）的活性没有显著差别。

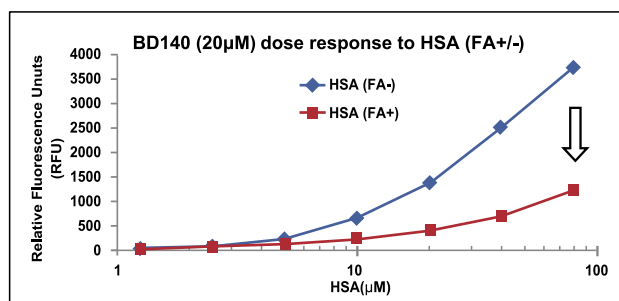
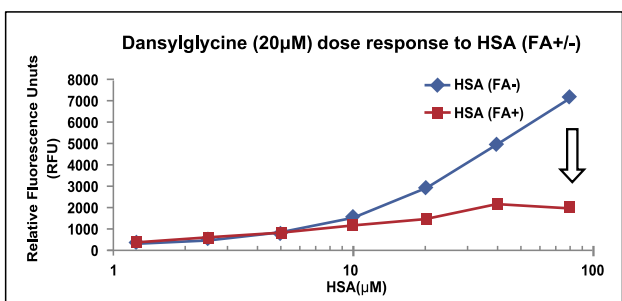
正因为丹酰胺[D5405]在使用FA+/FA-HSA时的检测结果没有明显差别，使其可用于药物结合位点的确认。

无论使用何种类型的HSA，都可对药物结合位点I进行确认。



对于丹磺酰甘氨酸[D5406]和BD140[D4898]，其对生化级(FA+)HSA(红色曲线)活性显著低于对无脂肪酸(FA-)HSA（蓝色曲线）的活性。

因此，在利用丹磺酰甘氨酸或BD140确认药物结合位点II时，不推荐使用生化级(FA+)HSA。



<实验条件>

缓冲液：1%DMSO于磷酸盐缓冲液中(pH 7.2-7.5)，HSA(人血清蛋白)：50 μL/孔，各荧光探针：50 μL/孔，培养：20-25℃条件下静置30 min，检测：读板仪；激发光=365 nm，发射光=480 nm (丹酰胺和丹磺酰甘氨酸)或585 nm (BD140)。

# 用于表征HSA上两个特异性药物结合位点的荧光探针

相关产品：这些化合物已被报道过其对白蛋白的结合活性<sup>4-6)</sup>

## 药物结合位点I化合物

Warfarin Sodium	5g / 25g [W0005]
Phenylbutazone	25g / 500g [P1686]
Indomethacin	5g / 25g / 100g / 500g [I0655]
3,5-Diiodosalicylic Acid	25g / 100g / 250g [D1677]
Bilirubin	100mg / 1g [B0460]
Oxaprozin	5g / 25g [O0377]

## 药物结合位点II化合物

Ibuprofen	5g / 25g / 100g / 500g [I0415]
Flurbiprofen	5g / 25g [F0371]
Propofol	25g / 500g [D0617]
Flufenamic Acid	25g / 500g [T2354]
Ketoprofen	25g [K0038]
L-Tryptophan	5g / 25g / 50g / 100g [T0541]

## 药物结合位点I和II化合物

TIBA	5g / 25g [T0451]
------	------------------

\*不保证每个产品的结合活性。

- 参考文献
- 4) J. Ghuman, P. A. Zunszain, I. Petitpas, A. A. Bhattacharya, M. Otagiri, S. Curry, *J. Mol. Biol.* **2005**, 353, 38.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.07.075>
  - 5) G. Sudlow, D. J. Birkett, D. N. Wade, *Mol. Pharmacol.* **1976**, 12, 1052.  
<https://molpharm.aspetjournals.org/content/12/6/1052>
  - 6) Y. Otagiri, *YAKUGAKU ZASSHI* **2009**, 129, 413.  
<https://doi.org/10.1248/yakushi.129.413>
  - 7) F. Nakashima, T. Shibata, K. Uchida, *et al.*, *Sci. Rep.* **2018**, 8, 932.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-018-19610-9>
  - 8) H. Yang, Y. Huang, J. Liu, *et al.*, *Sci. Rep.* **2017**, 7, 11126.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-11604-3>
  - 9) Y. Tanaka, H. Okuyama, R. Mukai, *et al.*, *Food Sci. Nutr.* **2022**, 10, 1070.  
<https://doi.org/10.1002/fsn3.2733>

更多信息，请查看我们的主页：[www.TCIchemicals.com](http://www.TCIchemicals.com)

TCI白蛋白结合



梯希爱(上海)化成工业发展有限公司  
[www.TCIchemicals.com](http://www.TCIchemicals.com)

询价与订购联系方式：

电话：800-988-0390/021-6712-1386

传真：021-6712-1385 邮件：[Sales-CN@TCIchemicals.com](mailto:Sales-CN@TCIchemicals.com)

地址：上海化学工业区普工路96号 邮编：201507