



СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СОЕДИНЕНИЙ, СОДЕРЖАЩИХ ЭЛЕКТРОФИЛЬНЫЕ ФРАГМЕНТЫ, ДЛЯ НОВЫХ БЕЛКОВЫХ МЕТОК



Яковец П.С.², Фалетров Я.В.^{1,2}, Шкуматов В.М.^{1,2}

¹НИИ Физико-химических проблем БГУ, Минск, Беларусь

²Химический факультет, БГУ, Минск, Беларусь

Контакты: yakov.polina.42@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Целью данной работы являлся дизайн и синтез структур на основе галогенпроизводных анилина, содержащих маркерные и электрофильные фрагменты, позволяющие модифицировать белки по функциональным аминокислотам (CYS, TYR), что потенциально может использоваться для изучения структуры и функций белков [1] в протеомике и дизайне ковалентных ингибиторов [2]. Для дополнительного анализа потенциала синтезированных соединений в качестве новых лекарств или флуоресцентных зондов, была проведена первичная оценка биологических свойств на клетках дрожжей и исследовано взаимодействие соединений с бычьим сывороточным альбумином (БСА) методом спектрофлуориметрического титрования.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Синтез

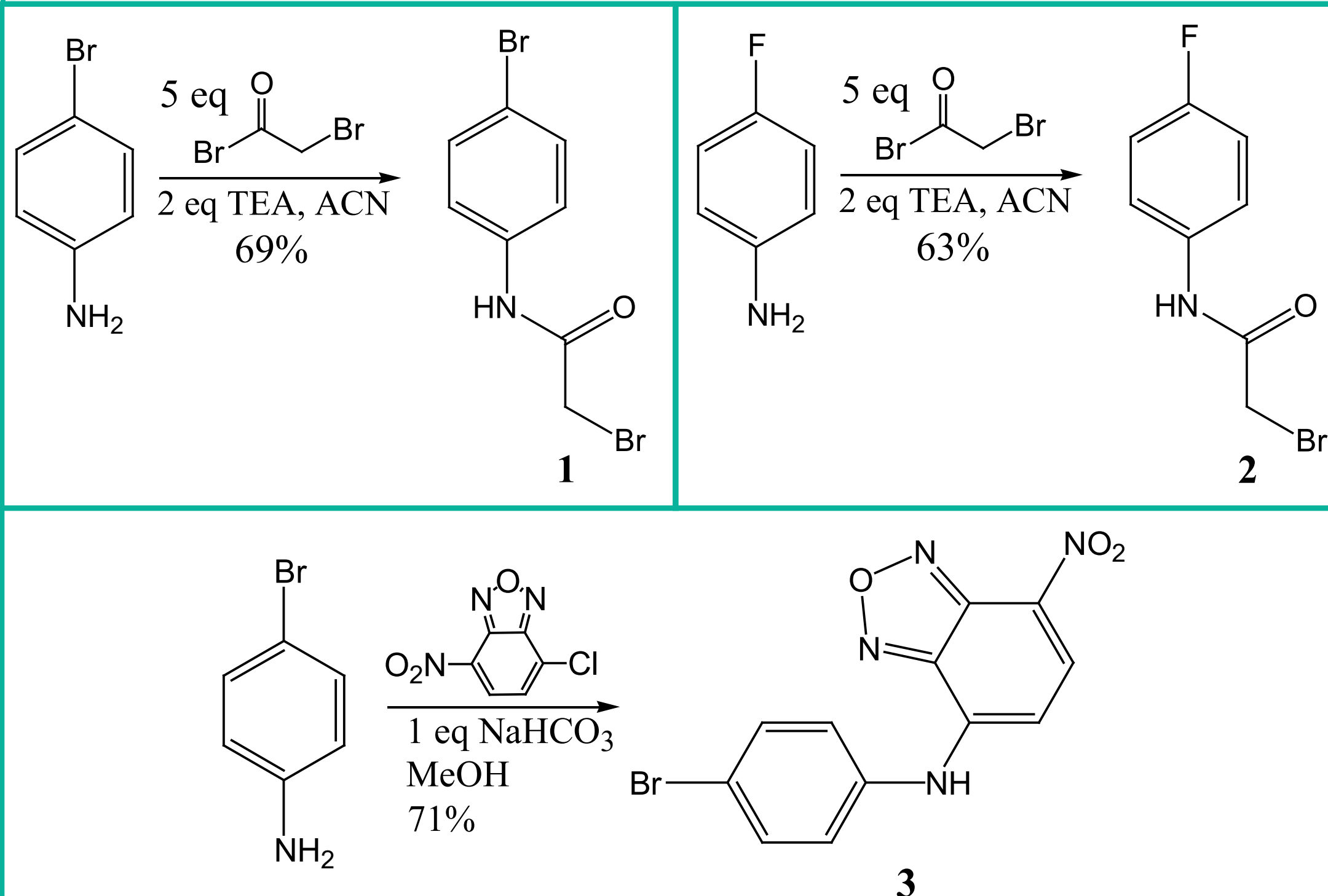


Рис. 1. Схемы синтеза целевых соединений, структуры которых были составлены с использованием подхода конструирования лигандов на основе фрагментов. Соединение 1: ¹H NMR: δ = 10.52 (s, 1H, NH), 7.57 – 7.54 (m, 2H, 2CH-benzene), 7.53 – 7.50 (m, 2H, 2CH-benzene), 4.03 (s, 2H, CH₂); ESI-MS: m/z [M]⁺ теор. для C₈H₇Br₂NO: 291+293+295, найдено: 291+293. Соединение 2: ¹H NMR: δ = 10.45 (s, 1H, NH), 7.62 – 7.58 (m, 2H, 2CH-benzene), 7.19 – 7.15 (m, 2H, CH, 2CH-benzene), 4.03 (s, 2H, CH₂).

Микробиологическое исследование

Ингибирование роста дрожжей *Yarrowia lipolytica* произошло в лунках с 2-бром-N-(4-бромфенил)ацетамидом (соединение 1) и N-(4-бромфенил)-7-нитробензофуразан-4-амином (соединение 3), на основании чего был сделан вывод, что данные соединения обладают противогрибковой активностью или цитотоксичностью по отношению к дрожжам *Yarrowia lipolytica*. В лунке с раствором 2-бром-N-(4-фторфенил)ацетамида (соединение 2) подавление роста дрожжей было не значительным.

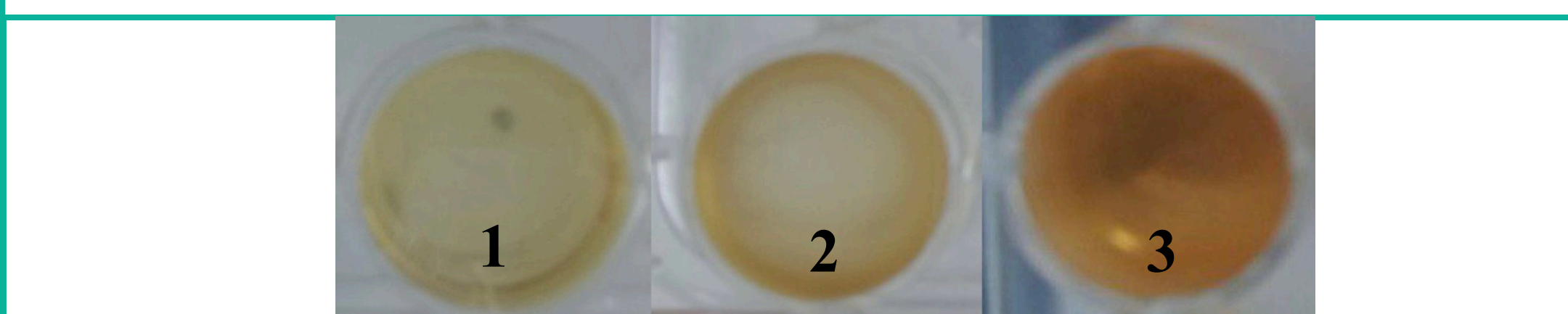


Рис. 2. Исследование ингибирования роста дрожжей *Yarrowia lipolytica* соединениями 1 (лунка №1), 2 (лунка №2), 3 (лунка №3).

Спектрофлуориметрическое титрование с БСА

Для исследования связывания соединений 1 и 3 с БСА *in vitro* было проведено прямое титрование, в ходе которого определяли изменение собственной флуоресценции БСА (за счет двух остатков Trp и двадцати остатков Tyr), а также изменение флуоресценции группы NBD при связывании с гидрофобными сайтами БСА. Спектры испускания регистрировали с использованием возбуждения как при 295 нм (БСА), так и при 460 нм (NBD).

На спектрах заметно увеличение флуоресценции полученных соединений (возбуждение при 460 нм) с увеличением их концентрации при титровании соединениями БСА, а также тушение собственной флуоресценции триптофана (возбуждение при 295 нм) при связывании с лигандом.

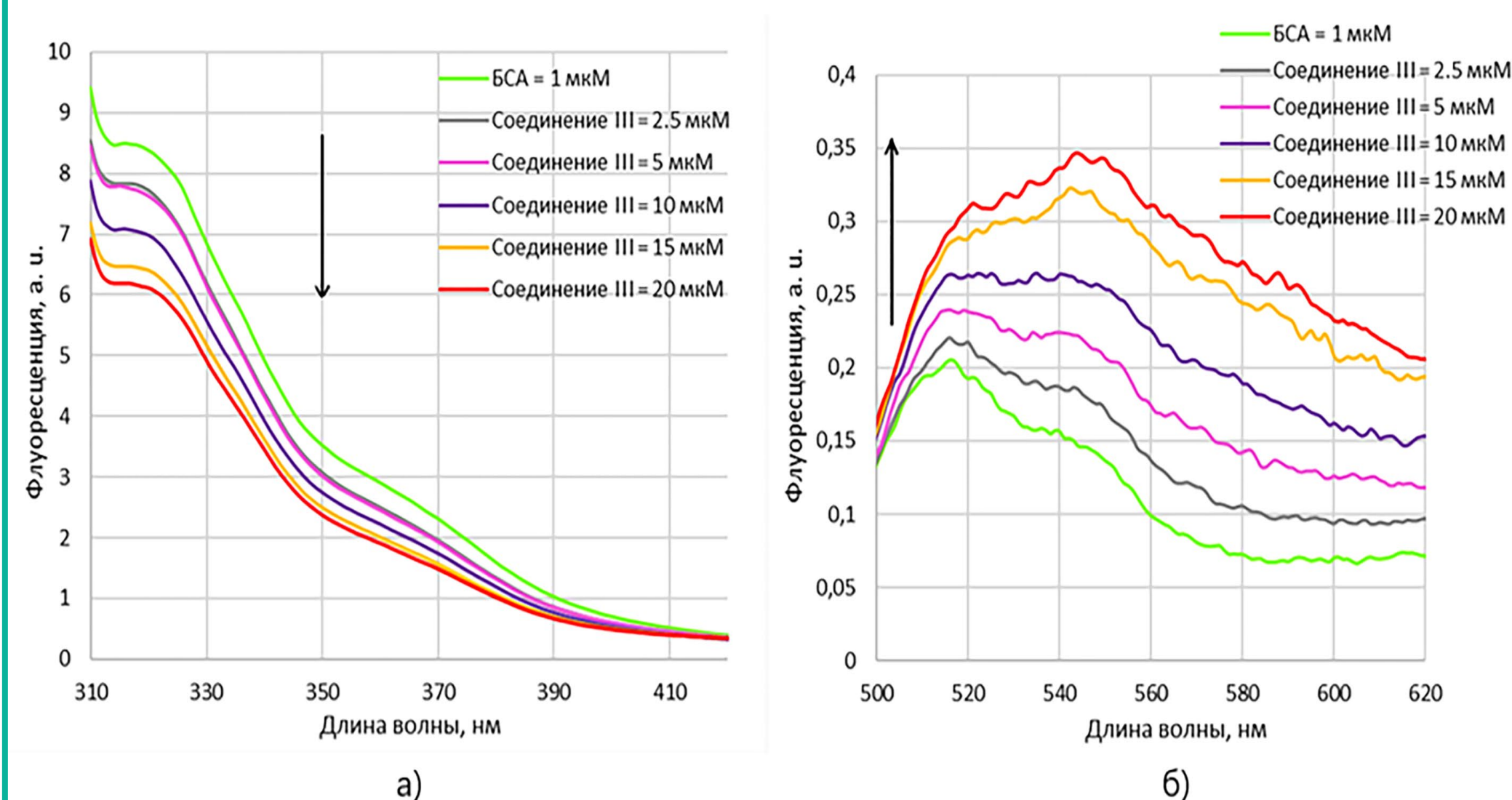


Рис. 3. Спектры флуоресценции, полученные при взаимодействии БСА с N-(4-бромфенил)-7-нитробензофуразан-4-амином (3) при: а) длине волны возбуждения 295 нм, б) длине волны возбуждения 460 нм.

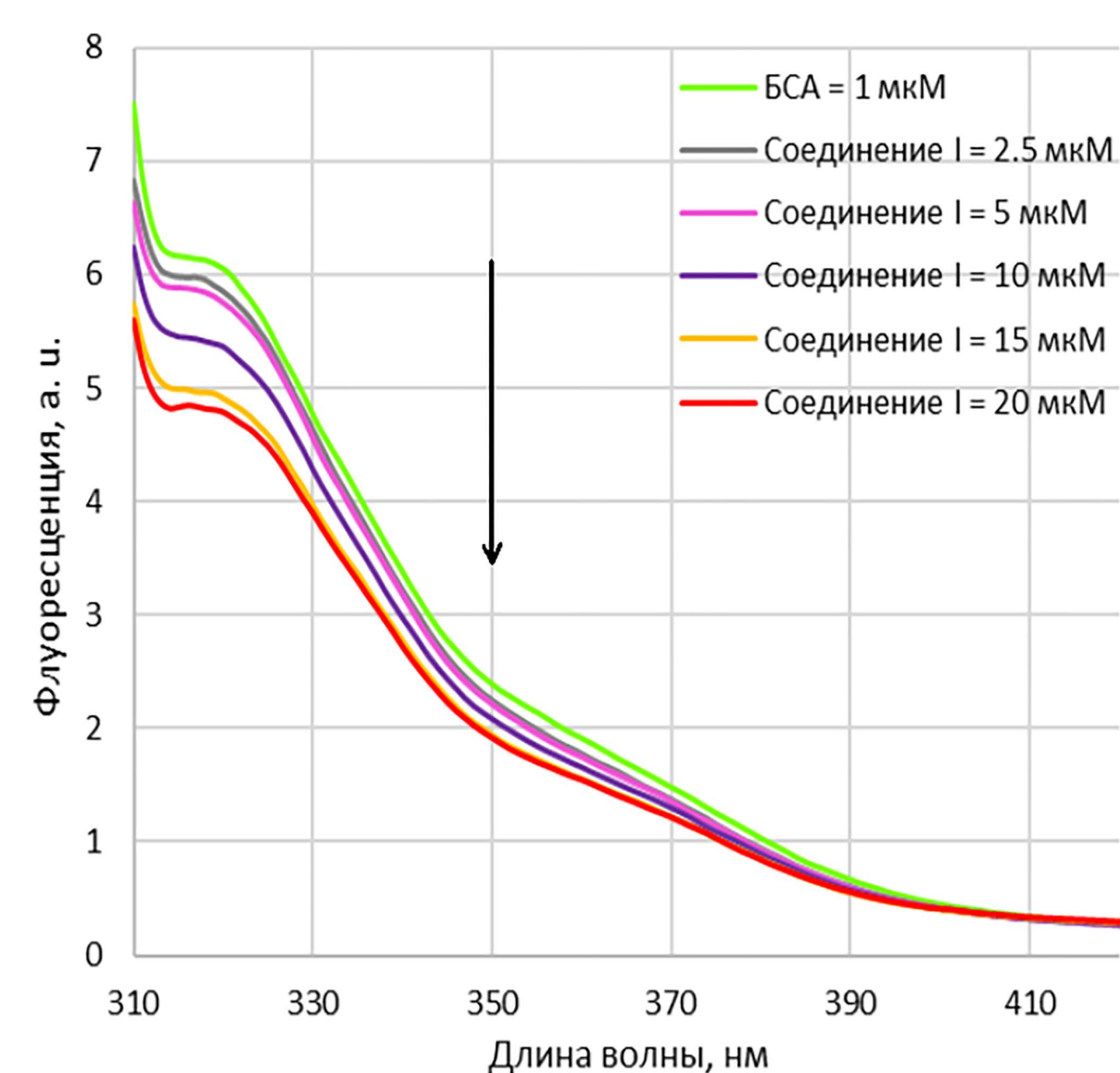


Рис. 4. Спектры флуоресценции, полученные при взаимодействии БСА с 2-бром-N-(4-бромфенил)ацетамидом (1) при длине волны возбуждения 295 нм.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- DOI: 10.1007/978-1-4939-2845-3_3
- DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.08.109

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа проведена при поддержке грантов ГПНИ № г.р. 20210560 (Я.В.Фалетров, В.М. Шкуматов), а также гранта Министерства Образования № 20220695.