

ОПТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫХ ЗОНДОВ НА ОСНОВЕ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ТЕТРАФЕНИЛЭТИЛЕНА

А. А. Луговский, А. А. Маскевич, М. П. Самцов, Е. С. Воропай,
А. П. Луговский, А. В. Лавыш, П. В. Курман

Институт прикладных физических проблем им. А. Н. Севченко БГУ,
Минск

E-mail: lugovski@bsu.by

Образование амилоидных нанофибрилл является нарушением сворачивания (фолдинга) белков и связано с возникновением таких заболеваний, как нейродегенеративные болезни Альцгеймера и Паркинсона, диабет II типа, вторичный амилоидоз, катаракта, злокачественная миелома и другие. Обнаружение амилоидных сборок в различных тканях это актуальная задача для разработки эффективной диагностики данных заболеваний на ранних стадиях. Также обнаружено, что кроме патологических функций амилоидные структуры могут выполнять важную физиологическую роль в нормальных физиологических процессах, таких как образование биопленок бактериями *Escherichia coli*, образования воздушных гиф бактерий *Streptomyces coelicolor* [1,2].

Оптическая диагностика является эффективным методом обнаружения амилоидных фибрилл *in vivo* и *in vitro*. В основе метода - изменение квантового выхода флуоресценции молекул зонда в зависимости от вязкости микроокружения. К зондам, так называемым молекулярным ротаторам, относятся бензтиазольные цианиновые красители (производные тиофлавина Т), дифенил- и трифенилметановые красители и т.д.

Нами разработаны обладающие флуоресценцией красители на основе тетрафенилэтилена, которые можно использовать для исследования кинетики образования амилоидных фибрилл и их предшественников.

Синтез соединения проводился в две стадии *in situ* из 4,4'-[(E,Z)-1,2-дифенилэтилен-1,2-диенил]-дифенола. На первой стадии исходное соединение подвергалось взаимодействию, с незначительным избытком, трет-бутилата калия в абсолютном этаноле. Полученный в результате фенолят без выделения подвергался взаимодействию с 1,4-бутансультоном. В результате этого был получен конечный продукт (4,4'-[(E,Z)-1,2-дифенилэтилен-1,2-диенил]-бис(пара-фениленбутилсульфат).

Хромато-масс-спектрометрический анализ проводился с помощью 6410 Triple Quad LC/MS с двойным детектором фирмы Agilent Technologies: спектрофотометром и масс-спектрометром с ионизацией молекул трифторуксусной кислотой. По результатам хромато-масс-спектрометрических исследований установлено, что синтезированное соедине-

ние проявляется в виде смеси двух стереоизомеров, при приблизительном соотношении транс:цис изомеров 4:1.

Проведены измерения спектров поглощения и флуоресценции полученного соединения в некоторых растворителях с различной полярностью. В качестве растворителей выбраны вода (рН 6.0), метиловый и этиловый спирты, 2-пропанол, диметилформамид (ДМФА), диметилсульфоксид (ДМСО) и 1,4-диоксан. Присутствие в электронном спектре поглощения нового красителя характерных для полифенилэтиленовых систем спектральных линий с максимумами поглощения 260 и 330 нм подтверждает его структуру. Положение полос поглощения в растворителях различной полярности практически не изменяется. При этом электронные спектры обоих стереоизомеров имеют одинаковую конфигурацию, что свидетельствует о незначительном взаимодействии бутокси-сульфонатных фрагментов в полярном апротонном растворителе. Однако положение спектров флуоресценции существенно зависит от полярности растворителя. Так, в воде, спиртах и ДМФА максимум спектра флуоресценции составляет 383 нм, в ДМСО – 390 нм, в 2-пропанол – 416 нм, и в 1,4-диоксане – 480 нм. Таким образом видно, что с ростом полярности растворителя спектр флуоресценции испытывает гипсохромный сдвиг.

Также были выполнены измерения спектров флуоресценции в водно-глицериновых растворах с различной вязкостью. Использовали следующее содержание глицерина в растворах: 22 %, 45 %, 81 %, 93 % и 100 %. Результаты измерений показали, что интенсивность флуоресценции (возбуждение 260 нм) при увеличении вязкости раствора возрастает в 5 раз. С увеличением процентного содержания глицерина и уменьшением содержания воды тушение флуоресценции уменьшается.

В результате проделанной работы реализованы высокоэффективные синтетические схемы по получению новых красителей, производных тетрафенилэтилена, которые могут найти применение в качестве модифицированных флуоресцентных зондов для тестирования амилоидных фибрилл в живых клетках и тканях.

1. R. N. Rambaran, L. C. Serpell // *Prion*. 2007. V. 2, No. 3. С. 112–117.
2. Газид Эхүд. Нанобиотехнология: необъятные перспективы развития М.: Научный мир, 2011. 152 с.