

ЛИТЕРАТУРА

1. Parham, S. Antioxidant, antimicrobial and antiviral properties of herbal materials / S. Parham, A.Z. Kharazi, H.R. Bakhsheshi-Rad, H. Nur, A.F. Ismail, S. Sharif, S. RamaKrishna, F. Berto // *Antioxidants*. – 2020. – V. 9, № 12. – Article 1309.
2. Alam, M.W. Electrochemical methodologies for investigating the antioxidant potential of plant and fruit extracts: A review / M.W. Alam, J. Najeeb, S. Naeem, S.M. Usman, I. Nahvi, F. Alismail, A. Abuzir, M. Farhan, A. Nawaz, // *Antioxidants*. – 2022. – V. 11, № 6. – Article 1205.
3. Gonçalves, R.S. Antioxidant properties of essential oils from *Mentha* species evidenced by electrochemical methods / R.S. Gonçalves, A. Battistin, G. Pauletti, L. Rota, L.A. Serafini // *Rev. Bras. Pl. Med.* – 2009. – V. 11, № 4. – P. 372–382.
4. Ziyatdinova, G. Constant-current coulometry with electrogenerated titrants as a novel tool for the essential oils screening using total antioxidant parameters / G. Ziyatdinova, A. Kalmykova, O. Kupriyanova // *Antioxidants*. – 2022. – V. 11, № 9. – Article 1749.

УДК 535.371

В.С. Карпушенкова, Я.В. Фалетров, В.М. Шкуматов
Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

NBD-АЗИДОАНИЛИН И NBD-ЭТИНИЛАНИЛИН: ИХ ТРИАЗОЛЬНЫЕ АДДУКТЫ В КАЧЕСТВЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ КРАСИТЕЛЕЙ И МОЛЕКУЛЯРНЫХ ПРОБ ДЛЯ АНАЛИЗА

Цель данной работы заключается в исследовании взаимодействия нитробензоксадиазольных (NBD) производных NBD-4-азидоанилина с гексином-1 и NBD-3-этиниланилина с азидом натрия. В биохимических исследованиях интересно применение флуоресцентных свойств NBD-производных, в составе которых могут присутствовать различные дополнительные функциональные группы, влияющие на характеристики наблюдаемой флуоресценции. Благодаря флуоресцентным свойствам NBD-соединения потенциально применимы в качестве флуоресцентных красителей [2, 3], в диагностике различных заболеваний и в качестве биологических молекулярных проб [4]. Изучение фотохимии данных соединений может дать новые варианты многофункциональных молекулярных проб для исследований в рамках биотехнологии, а также варианты новых флуоресцирующих красителей для различных методов анализа.

Материалы и методы исследования. Источником синего света (длина волны максимума излучения 450 нм) выступал фотодиодный прожектор. Термодинамические свойства оценивались с помощью программного обеспечения Gaussian 09W и GaussView 5.0. Были использованы следующие реактивы производства Sigma-Aldrich: 7-нитробензоксадиазол-4-ил хлорид (NBD хлорид), п-азидоанилин, гексин-1, иодид меди, 3-этиниланилин, азид натрия.

Результаты и обсуждение. При помощи реакции NBD хлорида с п-азидоанилином и 3-этиниланилином были получены NBD-азидоанилин (NBD-AzAn) и NBD-этиниланилин (NBD-Phyne) [1]. Присутствие азидной группы в NBD-AzAn было подтверждено в ходе проведения реакции «клик»-циклоприсоединения с избытком гексин-1-а в присутствии CuI в качестве катализатора, в результате образовался соответствующий триазол в виде единственного продукта (рис. 1).

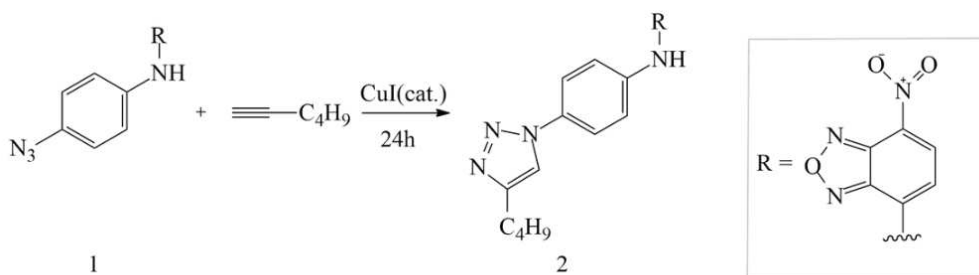


Рисунок 1 - Схема клик-взаимодействия NBD-производного азидоанилина (1) и гексина-1 с образованием триазольного производного (2).

Присутствие этинильной группы в NBD-Phyne было подтверждено в ходе проведения реакции «клик»-циклоприсоединения с избытком азид натрия в присутствии CuI в качестве катализатора, в результате образовался соответствующий триазол в виде единственного продукта (рис. 2). Клик-химия NBD-азидоанилина и NBD-этиниланилина интересна для разработок в области медицинской химии, где данный подход используется для получения соединений с триазольной функцией, часто выступающей фармакофором в фармацевтически активных соединениях. Клик-реакции отмечены в 2022 году Нобелевской премией по химии, они проходят при физиологических условиях, чаще всего катализируются в присутствии солей или комплексов меди.

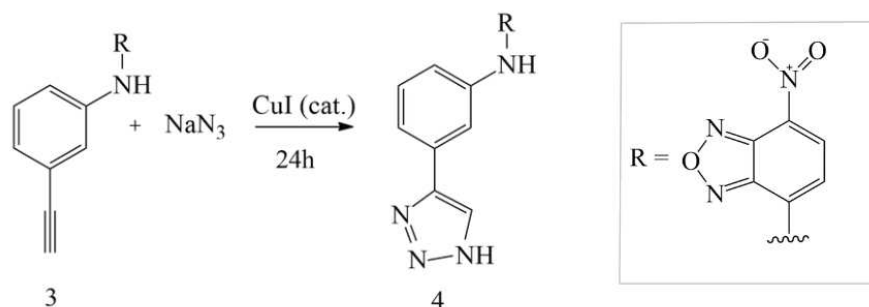


Рисунок 2 - Схема клик-взаимодействия NBD-производного 3-этиниланилина (3) и азиды натрия с образованием триазольного производного (4)

Из DFT расчетов было выяснено, что на энергию Гиббса реакции NBD-азидоанилина с гексином-1 наличие NBD-заместителя не влияет. DFT расчеты проводились с использованием b3lyp/6-31+g(d,p) теоретического уровня, полученное значение энергии Гиббса S_0 состояния для NBD-азидоанилина составило -1070.090218 а.у, азидоанилина – -451.144638 а.у. Теоретические значения энергии Гиббса, рассчитанные с использованием hf/sto-3g теоретического уровня в вакууме для клик-реакций с NBD-производным и п-азидоанилином, (рис. 1), составили -0,162339 и -0,163499 а.у. соответственно, таким образом, NBD заместитель практически не влияет в данном случае на энергию Гиббса реакции.

Исследование фотохимии NBD-азидоанилина [5] в растворе 97% гексина-1 проводилось с использованием фотодиодного прожектора, испускающего синее излучение с длиной волны 450 нм. Исследовался раствор 160 мкМ концентрации NBD-азидоанилина в гексине-1, изначальный стоковый раствор с концентрацией 1 мг/1 мл NBD-азидоанилина был приготовлен растворением сухой навески чистого вещества в ацетонитриле. К 400 мкл гексина-1 в виале добавляли 20 мкл стокового раствора. В качестве контрольного образца был взят раствор в метаноле, приготовленный из того же стокового раствора по описанной схеме. Также в отдельной виале параллельно в место без доступа света был помещен аналогичный раствор в гексине-1. В ходе первых 5-7 минут в исследуемом образце под действием излучения нарастала интенсивность желтой флуоресценции. Опыт проводился в течение 30 минут. Контрольный необлученный образец был оставлен на сутки, в результате флуоресценция в синем излучении для него не наблюдалась. Облученный контрольный образец в метаноле по истечении времени не приобрел флуоресцирующие свойства.

Отдельным контрольным опытом стало облучение аналогичных смесей, для которых вместо NBD-азидоанилина был взят NBD-этиниланилин. Ни один из трех образцов не проявил флуоресцентных свойств по окончании опыта. Также выяснено, что при облучении раствора 97% гексина-1 в видимом диапазоне не образовывалось флуоресцирующих продуктов.

Заключение. Определено, что NBD-азидоанилин в смеси с гексином-1 при облучении синим светом дает продукт, флуоресцирующий желтым, а при катализе медью – соединение малинового цвета. Выявлено новое индуцируемое видимым светом превращение между алкином и азидом, а также проведена реакция клик-химии между ними, приводящая к образованию продукта пурпурного цвета. Выявленные превращения частично охарактеризованы квантово-химическими расчетами. Вышеуказанное свидетельствует о потенциальном применении NBD-AzAn и NBD-Phyne в качестве красителей и молекулярных проб для исследования белков, сочетающих в себе флуоресцентную и азидную или этинильную функции, соответственно.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Interaction of Nitrobenzoxadiazole Derivatives of Piperazine and Aniline with Bovine Serum Albumine in Silico and in Vitro / Y.V. Faletrov [et al.] // J. Belarusian State Univ. Chem., 2021. – Vol. 2. – p. 25–35.
2. A novel highly sensitive fluorescent probe for bioimaging biothiols and its applications in distinguishing cancer cells from normal cells / H. Zhu [et al.] // Analyst, 2019. – № 144 – P. 7010-7016.
3. A near-infrared Nile Red fluorescence probe for discrimination of biothiols by dual-channel response and its bioimaging applications in living cells and animals / J.-S. Lan [et al.] // Analyst, 2019. – P. 1-9.
4. NBD-based synthetic probes for sensing small molecules and proteins: design, sensing mechanisms and biological applications / C. Jiang [et al.] // Chem. Soc. Rev., 2021. – № 50. – P. 7436-7495.
5. New Photochemical Properties of Azidoaniline and Ciprofloxacin / V.S. Karpushenkova [et al.] // Chemistry Proceedings, 2022. – Vol. 12. – № 1 (66). – p. 1-7. <https://doi.org/10.3390/ecsoc-26-13571>.