

УДК 577.37

**INTERACTION OF NOVEL BENZANTHRONE DERIVATIVE WITH AMYLOID
LYSOZYME****K.O. Vus¹, V.M. Trusova¹, G.P. Gorbenko¹, O.A. Zhytniakivska¹,
E. Kirilova², G. Kirilov², I. Kalnina²**¹*V.N. Karazin Kharkiv National University, 4 Svobody Sq., Kharkov, 61022*²*Department of Chemistry and Geography, Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Daugavpils University, 13 Vienibas, Daugavpils LV5401, Latvia*

Submitted June 3, 2011

Accepted July 5, 2011

A novel benzanthrone derivative AM18 was investigated with respect to its photophysical properties when bound to native, oligomeric and fibrillar hen egg white lysozyme. As shown by fluorimetric titration AM18 is more sensitive to pathogenic protein aggregates than Thioflavin T, however has no ability to differentiate between mature and immature lysozyme fibrils. The recovered affinity and fluorescence response of the novel probe to amyloid protein appeared to be similar to those of recently developed amyloid lysozyme-sensitive dyes like e. g. Nile Red and cyanine dye 7515. Despite the high increase of the probe emission in the presence of amyloid lysozyme compared to its fluorescence in buffer, the minimal amount that could be detected by 1 μ M AM18 was 10 times lower for amyloid-native protein solutions due to high affinity of the dye for lysozyme monomers. In general, because of high quantum yields and "signal-to-noise" ratios in the presence of pathogenic protein aggregates AM18 appeared to be an effective tool for amyloid detection and characterization *in vitro*, being however unable to detect pathogenic protein aggregates *in vivo* like e.g. recently reported p-FTAA because of the sensitivity to lipids. Compared to previously reported AM3 a novel dye showed 2-fold lower "signal-to-noise" ratio in the presence of fibrillar lysozyme, and 2 fold lower blue shift of emission maximum. This tendency was explained in terms of decreased charge transfer from the donor to acceptor groups of AM18 compared to AM3. Finally, as concluded from the comparison of AM18 and previously studied benzanthrone derivatives, the 5 nm – red edge excitation shift of AM18 is indicative of its possible binding to fibril "deep cavities", containing no water. High anisotropy values of amyloid-bound dye led us to conclusion that the enhanced fluorescence of the probe is associated with the decrease of the rotational motion of the amino-substitute about the benzanthrone unit. This is a sign of AM18 behaviour as a molecular rotor.

KEY WORDS: amyloid marker, affinity, dye, fluorescence, lysozyme, specificity.**ВЗАЄМОДІЯ ПОХІДНОЇ БЕНЗАНТРОНУ З АМІЛОЇДНИМ ЛІЗОЦИМОМ****К. О. Вус¹, В. М. Трусова¹, Г. П. Горбенко¹, О. А. Житняківська¹,
О. Кірілова², Г. Кірілов², І. Калніна²**¹*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, 61022*²*Кафедра хімії та географії, факультет природничих наук та математики, Даугавпільський університет, 13
Вієнібас, Даугавпілс LV5401, Латвія*

Досліджено фотофізичні властивості AM18, нової похідної бензантронну, при зв'язуванні з нативним, олігомерним та фібрилярним яєчним лізоцимом. За допомогою флуориметричного титрування показано, що AM18 більш чутливий до патогенних білкових агрегатів, ніж Тіофлавин Т, проте не може розрізняти зрілі та незрілі фібрили лізоциму. Водночас, отримані величини спорідненості та флуоресцентної відповіді нового зонду на присутність амілоїдного білу були одного порядку аналогічними параметрами нещодавно розроблених маркерів лізоциму, таких як, наприклад Нільський Червоний та ціаніновий барвник 7515. Незважаючи на чуттєве зростання флуоресценції зонду в присутності амілоїдного лізоциму відносно буферу, мінімальна кількість патогенних агрегатів, яку можна детектувати за допомогою 1 мкМ AM18, виявилася у 10 разів нижчою для розчину амілоїдного і нативного білку через високу спорідненість зонду до мономерів лізоциму. В цілому, внаслідок високих значень квантового виходу та відношень «сигнал – шум» у присутності патогенних білкових агрегатів, AM18 виявився ефективним інструментом для детектування та характеристики амілоїдів *in vitro*, проте нездатним виявляти