

Łódź, dn. 07.03.2017

Aleksandra Grzelakowska

Promotor: prof. dr hab. inż. Jolanta Sokołowska

Promotor pomocniczy: dr inż. Jolanta Kolińska

**Nowe barwniki pochodne benzo[*a*]fenoksazyny oraz 3-formylo-2(1*H*)-chinolonu –
synteza, właściwości oraz zastosowanie w detekcji tioli**

Streszczenie

Projektowanie, synteza i zastosowanie sensorów kolorymetrycznych i/lub fluorescencyjnych, które są selektywne i wykazują specyficzną odpowiedź optyczną w obecności określonego analitu w mniej lub bardziej złożonej matrycy, znajdują się obecnie w obszarze zainteresowań badaczy wielu tradycyjnych dyscyplin.

Powszechnie zmiany poziomu tioli w komórce mogą wskazywać na różnorodne schorzenia układu sercowo-naczyniowego i choroby neurodegeneracyjne lub nawet doprowadzić do nich. Ze względu na biologiczną ważność związków tiolowych, takich jak cysteina (Cys), homocysteina (Hcy) i glutation (GSH), bardzo istotne są ich detekcja oraz oznaczanie w próbkach biologicznych. Wśród wielu technik analizy biotiole jedną z najdogodniejszych metod okazała się optyczna detekcja, którą wyróżnia prostota, brak konieczności stosowania zaawansowanych urządzeń i skomplikowanych procedur, a także wysoka czułość, selektywność i specyficzność względem związków tiolowych.

W niniejszej pracy doktorskiej opisano syntezę, przedstawiono charakterystykę spektroskopową i zbadano możliwość zastosowania nowych barwników pochodnych 3-formylo-2(1*H*)-chinolonu oraz benzo[*a*]fenoksazyny jako chemosensorów optycznych do detekcji związków tiolowych.

Pierwszą część pracy stanowiła wieloetapowa synteza barwników opartych na szkielecie 2-chinolonu. Zsyntetyzowano czternaście nowych barwników tej grupy, wśród których osiem stanowią pochodne z ugrupowaniem dicyjanoetylenowym, a sześć to związki z ugrupowaniem 3-metylobenzotiazoloetylenowym. W drugiej części prac syntetycznych otrzymano w czteroetapowej reakcji trzy nowe pochodne benzo[*a*]fenoksazyny z ugrupowaniem maleimidu w strukturze. Wszystkie zsyntetyzowane w ramach pracy

doktorskiej barwniki uzyskano z bardzo dobrymi lub zadowalającymi wydajnościami, a ich struktury potwierdzono za pomocą spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego i spektrometrii mas.

Stwierdzono, że podstawowe właściwości spektroskopowe i fotofizyczne otrzymanych barwników, takie jak położenie maksimum pasma absorpcji i emisji, współczynniki ekstynkcji molowej, wydajności kwantowe fluorescencji oraz czasy życia fluorescencji, zależą od struktury chemicznej barwnika i częściowo od polarności zastosowanego rozpuszczalnika.

Otrzymane barwniki posiadają w strukturze ugrupowania zdolne do reakcji ze związkami tiolowymi na drodze nukleofilowej addycji.

Wykazano, że w przypadku barwników z ugrupowaniem dicyjanoetylenowym L-cysteina w środowisku o pH 7,4 powoduje hipsochromowe przesunięcie maksimum pasma absorpcji i wygaszenie fluorescencji układu, nawet w obecności związków konkurencyjnych. W przypadku barwników z ugrupowaniem 3-metylobenzotiazoloetylenowym efekt hipsochromowy uzyskano po dodaniu do roztworu barwników aminokwasów tiolowych, takich jak L-cysteina, N-acetylo-L-cysteina i L-glutation. Natomiast dodanie L-cysteiny do roztworów barwników benzofenoksazyńowych spowodowało znaczny wzrost intensywności fluorescencji oraz batochromowe przesunięcie maksimum pasma absorpcji.

W ramach badań kinetycznych stwierdzono, że reakcję barwników z ugrupowaniem dicyjanoetylenowym z L-Cys opisuje model kinetyczny reakcji pseudo-pierwszego rzędu. Znacznie dłuższy czas odpowiedzi optycznej pochodnych z ugrupowaniem 3-metylobenzotiazoloetylenowym wskazuje, że w przypadku tych barwników efekty steryczne dominują nad efektami elektronowymi podstawników w aktywacji wiązania podwójnego do nukleofilowej addycji.

Badania reaktywności otrzymanych barwników względem L-Cys w zależności od pH pozwoliły stwierdzić, że wszystkie zsyntetyzowane związki wykazują odpowiedź optyczną wobec tego aminokwasu w środowisku o pH zbliżonym do fizjologicznego.

Najniższe stężenie L-Cys, które można wykryć za pomocą nowych barwników, pochodnych 2-chinolonu i benzo[a]fenoksazyń jest porównywalne z wartościami uzyskanymi w przypadku innych dotychczas opisanych w literaturze chemosensorów.

Synteza oraz charakterystyka za pomocą spektroskopii NMR i spektrometrii mas produktu reakcji barwnika z ugrupowaniem dicyjanoetylenowym z 2-merkaptanoetanołem potwierdziła addycję tiolu do wiązania podwójnego. Natomiast, analiza UPLC/MS produktów reakcji barwników benzo[*a*]fenoksazyńowych z L-Cys sugeruje, że reakcja ta może przebiegać według innego mechanizmu niż addycja Michaela oraz to, że tiol może przyłączyć się do cząsteczki barwnika na dwa różne sposoby.

W ramach niniejszej pracy stwierdzono również, że wszystkie otrzymane barwniki wykazują niewielką aktywność cytotoksyczną na komórki linii neuroblastomy ludzkiej (SH-SY5Y) w teście MTT.

Uzyskane wyniki wskazują, że zsyntetyzowane w ramach przedstawianej pracy doktorskiej nowe barwniki mogą potencjalnie znaleźć zastosowanie jako chemosensory optyczne do detekcji związków tiolowych.

Aleksandra Gmelkowska