Бугера Олександра Ігорівна, старший лаборант з в. о. кафедри органічної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка: &laquo;Синтез та власти&shy;вості моно- і дихромофорних флуоресцентних зондів для детекції АТФ&raquo; (02.00.03 - органічна хімія). Спецрада Д 26.001.25 у Київському національному університеті імені Тараса Шевченка

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Міністерство освіти і науки України

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова

праця на правах рукопису

БУГЕРА ОЛЕКСАНДРА ІГОРІВНА

УДК547.97+547.8+547-32+543.48+

577.152.27+535.343+543.062

ДИСЕРТАЦІЯ

СИНТЕЗ І ВЛАСТИВОСТІ МОНО- ТА ДИХРОМОФОРНИХ

ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ ЗОНДІВ ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ АТФ

02.00.03 – органічна хімія

Подається на здобуття наукового ступеня

кандидата хімічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,

результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

(підпис, ініціали та прізвище здобувача)

Науковий керівник:

ПИВОВАРЕНКО ВАСИЛЬ ГЕОРГІЙОВИЧ

доктор хімічних наук, професор

Київ – 2018

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ, ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ

І ТЕРМІНІВ

19

ВСТУП 21

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ 32

1.1. Хемосенсори з четвертинними імідазолієвими або амонійними групам

як центри зв’язування

34

1.2. Хемосенсори на основі взаємодії водневих зв'язків: азакраун, амідні та

похідні сечовини

41

1.3. Хемосенсори на основі комплексів цинку як центрів зв’язування 45

1.4. Люмінесцентні хемосенсори на основі лантаноїдів і використання

інших металічних комплексів у рецепторі АТФ

52

1.5. Хемосенсори на основі зшитих з полімерів або мезопористих

матеріалів

55

1.6. Хемосенсори на основі олігонуклеотидів 62

1.7. Флуоресцентні наноматеріали 63

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ДО РОЗДІЛУ 1 66

РОЗДІЛ 2. СКРИНІНГ ХРОМОНІВ ТА ХІНОЛОНІВ ДЛЯ

ВИМІРЮВАННЯ КОНЦЕНТРАЦІЇ АДЕНОЗИНТРИФОСФАТУ

76

2.1. Спектри поглинання 77

2.2. Спектри збудження та флуоресценції сполук 80

2.3. Робочі діапазони концентрації АТФ зондів 85

2.4. Чутливість барвників до АТФ за амплітудою відповіді 88

2.5. Зв’язок структура-відповідь 90

2.6. Висновки 93

2.7. Експериментальна частина 94

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ДО РОЗДІЛУ 2 97

РОЗДІЛ 3. ДИЗАЙН ТА СИНТЕЗ ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ ЗОНДІВ НА

ОСНОВІ 3-ГИДРОКСИФЛАВОНУ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ АДЕНОЗИН-5’-

ТРИФОСФАТУ

101

3.1. Синтез катіонних та цвіттер-іонних флуоресцентних сенсорів для

визначення АТФ

102

3.2. Модифіковані в положенні 4’ амінофлавоноли 105

3.3. Дизайн та синтез молекулярних пінцетів 110

17

3.3.1. Синтез молекулярних пінцетів з довгим лінкером 110

3.3.2. Синтез молекулярних пінцетів з коротким лінкером 120

3.4. Експериментальна частина 124

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ДО РОЗДІЛУ 3 141

РОЗДІЛ 4. ЕЛЕКТРОФЛУОРОХРОМНИЙ ВПЛИВ АНІОНА АТФ НА

ФЛУОРЕСЦЕНЦІЮ КАТІОННИХ ТА ЦВІТТЕР-ІОННИХ ФЛАВОНОЛІВ

144

4.1. Спектри поглинання 145

4.2. Спектри флуоресценції 146

4.3. Висновки 152

4.4. Експериментальна частина 153

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ДО РОЗДІЛУ 4 156

РОЗДІЛ 5. ПІДВИЩЕННЯ АФІНІТЕТУ ТА ЗМІНА СЕЛЕКТИВНОСТІ

ФЛУОРЕСЦЕНТНИХ СЕНСОРІВ АТФ ШЛЯХОМ ХІМІЧНОЇ

МОДИФІКАЦІЇ ЇХ БУДОВИ

157

5.1. Дослідження агрегації сполук у водних розчинах 158

5.2. Вивчення взаємодії флавонолів 13-16, 20, 21 з АТФ 160

5.2.1. Спектри поглинання 160

5.2.2. Спектри флуоресценції 163

5.2.3. Спектри збудження флуоресценції 166

5.2.4. Порівняння спектрів збудження флуоресценції зі спектрами

поглинання

170

5.2.5. Розрахунок ефективних констант дисоціації 172

5.3. Дослідження взаємодії похідних 3-гідроксифлавону з ГТФ, АДФ і

АМФ

174

5.3.1. Дослідження взаємодії з ГТФ 174

5.3.2. Дослідження взаємодії синтезованих сполук з АДФ 179

5.3.3. Дослідження взаємодії з АМФ 185

5.4. Вимірювання анізотропії флуоресценції комплексу сполук з АТФ 188

5.5. Селективність взаємодії досліджуваних сполук з АТФ, АДФ, АМФ та

ГТФ

190

5.6. Висновки 191

5.7. Експериментальна частина 193

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ДО РОЗДІЛУ 5 195

РОЗДІЛ 6. МОЛЕКУЛЯРНИЙ ПІНЦЕТ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ 196

18

КОНЦЕНТРАЦІЇ АТФ У РОЗЧИНАХ НА ОСНОВІ ФЛАВОНОЛУ

6.1. Спектри поглинання 198

6.2. Спектри флуоресценції 199

6.3. Висновки 203

6.4. Експериментальна частина 203

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ДО РОЗДІЛУ 6 205

РОЗДІЛ 7. ФЛУОРИМЕТРІЯ КОМПЛЕКСІВ ФЛАВОНОЛІВ З

АДЕНОЗИН-5’-ТРИФОСФАТОМ ПРИ ЗМІНІ ІОННОЇ СИЛИ, рН

РОЗЧИНУ ТА КОНЦЕНТРАЦІЇ ОРГАНІЧНОГО БУФЕРА

206

7.1. Флуориметрія комплексів 4’-диметиламінофлавонолу з аденозин-5’-

трифосфатом

206

7.2. Утворення комплексів метоксифлавонолів з АТФ 211

7.3. Висновки 219

7.4. Експериментальна частина 220

7.4.1. Дослідження впливу концентрації буфера ТРИС на флуоресценцію

флавонолу 1 та його комплексів з АТФ

220

7.4.2. Дослідження впливу концентрації NaCl на флуоресценцію флавонол

1 та його комплексів з АТФ

221

7.4.3. Дослідження впливу рівня рН розчину на флуоресценцію флавонолу

1 та його комплексів з АТФ

221

7.4.4. Взаємодія сполук 1 – 5 з АТФ 221

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ДО РОЗДІЛУ 7 222

ВИСНОВКИ 224

ДОДАТОК 226

Висновки

Дослідженосеріюізтридцятитрьохсинтезованихранішефлавонолів

бісфлавонолівгідроксихромонівтагідроксихінолонівтавстановлено

щоїхпереважнубільшістьможнавикористовуватиуякості

флуоресцентнихзондівщозвязуютьсязАТФідозволяютьвизначатийого

вмежахфізіологічнихконцентраційасаме–мкМВсясеріяз

тридцятибарвниківявляєсобоюнабірдлявиявленняАТФщодозволяє

вибиратизондзвідповіднимспектромзбудженнятаемісіїрозміром

гідрофобністюабозарядом

Синтезованорядфлуоресцентнихзондівщомістятьодинтадва

хромофориОкремімонохромофорнісполукимаютьаніоннукатіоннута

цвіттеріоннуприродуатакожмістятьіншізамісникищозмінюють

орієнтаціюкомпонентівукомплексіатакожафінітеттаселективністьдо

АТФБіхромофорнісполуки–молекулярніпінцетимістятьдовгі

активнітапасивніікороткілінкериякітежзмінюютьякорієнтацію

компонентівукомплексітакіафінітеттаселективністьпінцетудоАТФ

Результатифлуориметричнихдослідженьвзаємодіїфлавонолівз

нуклеозидфосфатамиуводнихрозчинахзанейтральнихзначеньрН

свідчатьщокомплексоутвореннязнуклеотидамипроявляєтьсяунаступних

спектральнихефектах

•Зменшенняоптичноїгустиниуспектрахпоглинаннязарахунок

стекінгуфлавонолузнуклеїновоюосновою

•Збільшенняінтенсивностіфлуоресценціївнаслідокзменшення

концентраціїмолекулводивоточенніфлавонолутаусуненнягасіння

флуоресценціїводоюУвипадкахфлавонолівз

електроноакцепторнимизамісникамицейефектчастомаскується

відомимефектомгасінняфлуоресценціїнуклеїновоюосновоюза

рахунокфотоперенесенняелектронунафлавонолПротеприутворення



комплексутакегасінняблокуєтьсявнаслідоккомпенсації

електроноакцепторностіфлавонолудругоюнуклеїновоюосновою

•Появановоїсмугиуспектрахзбудженняфлуоресценціївнаслідок

потужногоелектростатичногоефектуфосфатнихгрупнуклеотидуна

хромофорфлавонолу

Внаслідокпослідовногоутвореннякількохкомплексівмежі

визначенняАТФздопомогоюгідроксифлавонівємінімумнапорядок

більшиминіжувипадкуіншихвідомихзондівіскладаютьпорядки

концентраціїАТФ

Афінітетіселективністьгідроксифлавонівдонуклеозидфосфатів

можнарегулюватишляхомзміниприродизамісниківтаїхположенняв

молекуліНайбільшийвпливчинятьзамісникивположенні’тодіяк

замісникивположеннімаловпливаютьнаафінітетКатіонніта

гідроксилвміснізамісникивположенні’значнопідвищуютьстабільність

комплексівзАТФСполукиякімістятьзахищенугідроксигрупу

проявляютьслабкішіефектиуспектрахфлуоресценціїтамаютьнижчий

афінітетдонуклеотидівОтжеОНгрупаприймаєучастьу

комплексоутвореннітауформуванніспектральноївідповідіна

комплексоутворенняФлуоресцентнавідповідьбіхромофорних

молекулярнихпінцетівпризвязуваннізАТФєкращоюзапараметрами

інтенсивностісигналувідстаніміжсмугамизбудженнявільногозондута

йогокомплексузАТФтамеждетекціїАТФУказанівластивостіє

суттєвимиперевагамимолекулярногопінцетуупорівняннізпростими

монохромофорнимиконструкціямифлуоресцентнихзондів