

JAUNU FLUORESCĒJOŠU KRĀSVIELU MEKLĒJUMI SEARCHING FOR NEW FLUORESCENT DYES

Autori: **Anastasija KONSTANTINOVA**, e-pasts: ozolaana@gmail.com

Darba vadītāji: **Jelena KIRILOVA**, docente, Dr.chem. Daugavpils Universitāte. Adrese:

Parādes iela 1A. E-pasts: jelena.kirilova@du.lv.

Andrejs ZAIČENKO, pētnieks, Mg.chem. Daugavpils Universitāte. Adrese: Parādes iela 1A. E-pasts: andrejs.zaicenko@gmail.com.

Abstract: Today, luminescent dyes are widely used in medicine and in various industries. Benzanthrone is widely used as a laser dye, fluorescent pigment, as well as various medical examinations, for example, antibodies are labeled with luminescent dyes to detect antigens in cells. Work aim is synthesize new luminescent benzanthrone derivatives with benzimidazole and amino acid residues. Reaction ability of 3-N-(2-chloroacetamido)benzanthrone to replace the chlorine atom with various heterocyclic amines and amino acids was investigated.

Keywords: Luminescent, benzanthrone, amino acids, 3-N-(2-Hloracetamido)benzanthrone.

Ievads

Fluorescējošās krāsvielas atrod plašu praktisku pielietojumu, bieži tos izmanto rūpniecībā, ķīmijā un biomedicīniskajos pētījumos. Izmantojot fluorescējošās krāsvielas, var iekrāsot noteiktas biomolekulas audos un izpētīt šūnu un dzīvo organismu ķīmisko sastāvu vai to izmaiņas. Pēdējos gados tiek izstrādāti vairāki bioloģiski saderīgi fluorofori un fluorescējošās zondes. Pateicoties tiem atklājumiem, ir parādījušies akvārija zivis - Danio Rerio, kuri pirmajos attīstības posmos ir caurspīdīgi, bet pēc fluorescējošā pigmenta ievadīšanās tiem ir spilgts krāsojums, kurš var nodoties no paaudzes paaudzē.

Mūsdienās tiek izstrādāti fluorescējošie zondi, kuri iekrāso ļaundabīgu audzēju un savlaicīgi identificē to endoskopiskās izmeklēšanās vai tomogrāfijas laikā. Ar fluorescējošiem zondiņiem var arī pētīt nukleīnskābes, DNS un RNS.

Luminiscence ir vispārīgs termins, kas raksturo procesu, kurā materiāls absorbē enerģiju no ārēja avota un šo enerģiju atkārtoti izstaro redzamas gaismas formā. [1]. Citiem vārdiem sakot, dažu vielu (luminoforu) "aukstais" starojums. Luminiscenci var iedalīt divos veidos: fluorescence, kurai ir momentānais gaismas izstarojums pēc enerģijas ievadei (spīduma ilgums 8-10 sekundes) un fosforescenci, kam raksturo aizkavētu gaismas izstarošanu (spīdēšana var turpināties vairākas minūtes). [1].

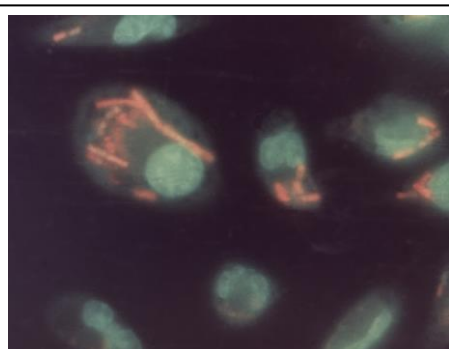
Viens no spilgti fluorescējošākajiem zāļu savienojumiem ir hinīns. Skābos šķīdumos hinīnam piemīt zilā fluorescence, bet sārmainos šķīdumos violetā fluorescence. Lai to noteiktu asins plazmā, olbaltumvielas tiek nogulsnētas ar metafosforskābi un tieši filtrātā mēra hinīna zilo bioluminiscenci. [2]. Sēnīšu slimību noteikšanai medicīnā un veterinārijā izmanto šķirņu luminiscējošo analīzi. Pretsēnīšu zālei "Griseofulvīns" piemīt spilgti zila fluorescence, to viegli var konstatēt asins vai urīna ekstraktos. Pēc ekstrakcijas ir iespējama daudzu vitamīnu kvantitatīva analīze, piemēram, E vitamīnam, maksimālā fluorescence atrodas UV apgabalā pie 330 nm. B6 vitamīnam ir zila fluorescence [3] un A vitamīnam ir zaļa fluorescence. [4].

Luminiscējošām krāsvielām ir plašs pielietojums kriminalistikā. Bioloģiski aktīvas vielas morfīns un heroīns fluorescē ļoti vāji, bet pēc paraugu apstrādes ar sērskābi un pēc tās izskalošanās rodas reakcijas produktu specifiska intensīva zila fluorescence. Ar šo metodi var noteikt līdz pat 0,02 µg narkotiku saturu paraugā. [5]

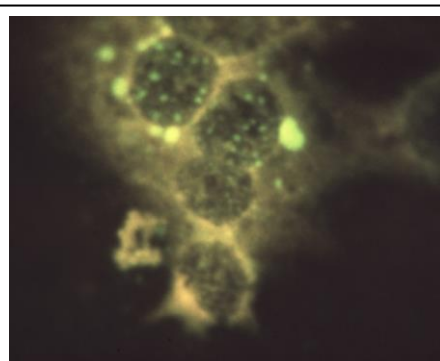
Medicīniskajos izmeklējumos bieži izmanto fluorescējošās zondes. Ultravioletā starojuma ietekmē fluorescē daudzas ķermeņa daļas, piemēram, audi, nagi, zobi, nepigmentēti mati, radzene. Dažos gadījumos patoloģiski izmainītus audus (ļaundabīgus no labdabīgiem) var atšķirt pēc mirdzuma rakstura. Ievadot ķermenī dažus hidrofobus porfirīnus (hematoporfirīnu

un tā atvasinājumus), šie savienojumi selektīvi uzkrājas audzēja audos. Tādējādi, porfirīns UV gaismā nokrāso audzēju ar sarkanu fluorescenci. Šo iespēju izmanto ādas audzēju vizuālai atpazīšanai, bet ar endoskopisko tehnoloģiju var atpazīt trahejas, bronhu, kuņģa-zarnu trakta audzējus. [6].

Izmantojot fluorescējošās krāsvielas, var iekrāsot noteiktas biomolekulas audos un izpētīt šūnu un dzīvo organismu ķīmisko sastāvu vai to izmaiņas. Pirmajā luminiscējošā mikroattēlā ir redzams makrofāgs, kuram iekšpusē ir redzamas fagocitizētas baktērijas, kas izstaro sarkanu luminiscenci (iepriekš apstrādāts ar oranžu akridīnu) (1.attēls). Otrajā luminiscējošā mikroattēlā ir redzama ar masalu vīrusu inficētu cilvēka amnionu šūna, vīrusa antigēna lokalizācijas zonām ir zaļgans krāsojums (fluorescējošu antivielu metode). (2.attēls). [7].



1.att.Mikrofāgs iekrāsots ar sarkanu luminiscenci. [7]

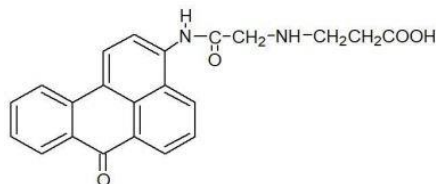


2.att. Masala vīruss iekrāsots ar zaļo luminiscenci.[7]

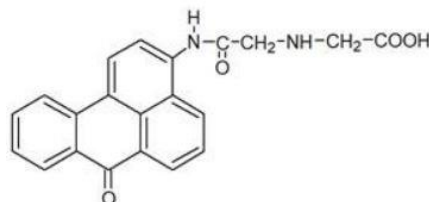
Materiāli un metodes

Dotais pētījums ir turpinājums un paplašinājums iepriekšējiem pētījumiem bakalaura darba ietvaros, kad bija pētītas benzantrona amidoatvasinājuma reakcijas ar vairākām aminoskābēm (glicīns,alanīns,prolīns) un benzimidazola atvasinājumiem. Projektā tika izmantotas vairākas sintēžu metodes - alkilēšanas, diazotēšanas, halogenēšanas,nitrēšanas un acilēšanas reakcijas, lai atrastu labākus apstākļus un iegūt vēlāmus produktus ar vislielākoiznākumu un spilgtāko luminiscenci.

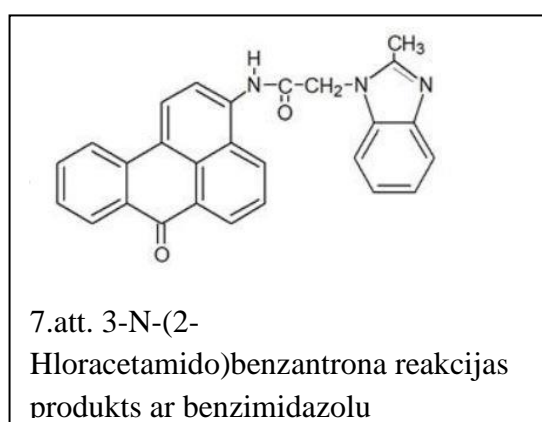
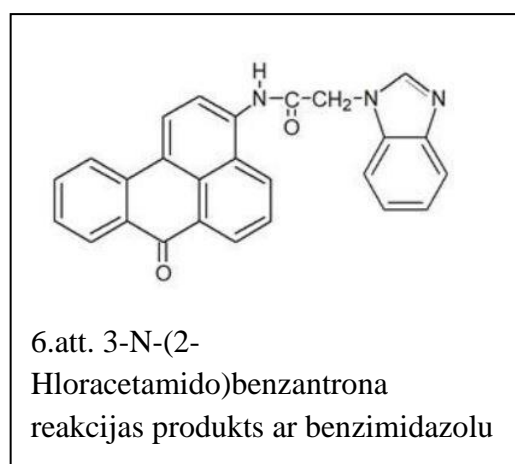
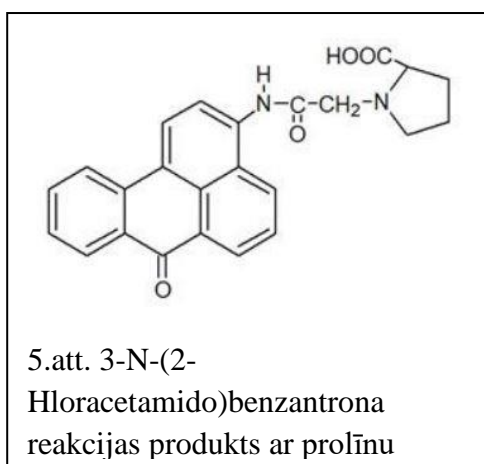
Bakalaura darbā bija izmantots 3-N-(2-Hloracetamido)benzantrons. Veicot vairākus mēģinājumus, tika veiksmīgi sintezēti vairākie savienojumi ar spilgtu dzeltenu un zaļu luminiscenci. Sintezēto vielu ķīmiskās struktūras ir pierādītas ar IS spektroskopijas un masspektrometrijas palīdzību. Un bija iegūti 5 produkti (3.attēls, 4.attēls, 5.attēls, 6.attēls,7.attēls) ar dažādām īpašībām :



3.att. 3-N-(2-Hloracetamido)benzantrona reakcijas produkts ar alanīnu



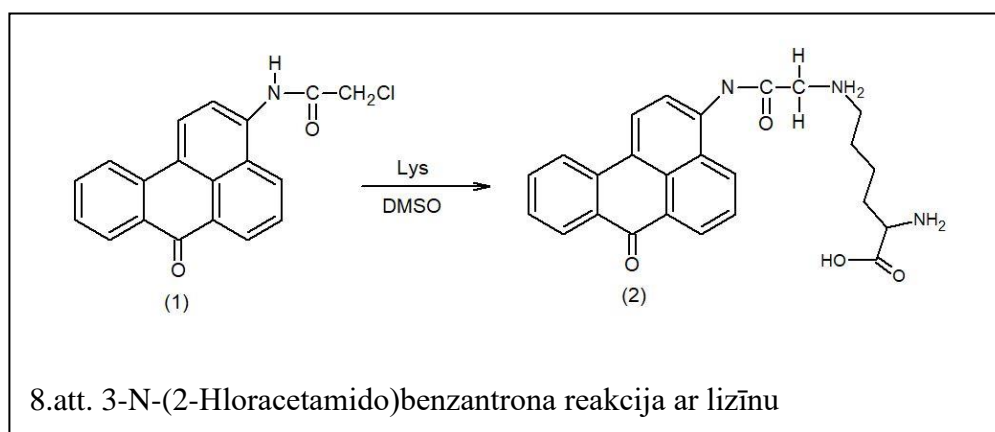
4.att. 3-N-(2-Hloracetamido)benzantrona reakcijas produkts ar glicīnu



Pētot iegūtas savienojumus, bija noskaidrots, ka dažie no tiem nav stabili un pēc ilgstošas uzglabāšanas sadalās līdz 3-aminobenzantronam. Šī procesa mehānisma skaidrošanai nepieciešami tālākie pētījumi.

Darbs ir vērsts uz jaunu luminoforu sintēzi, kuros tiks izmantotas lielāks aminoskābju klāsts, lai iegūt stabilus savienojumus ar izteiktu luminiscenci, kurus nākotnē varēs pielietot medicīnā un dabaszinātnēs noteiktu biomolekulu krāsošanai, lai veikt to tālākos pētījumus un izstrādāt drošas diagnostikas metodes dažādām slimībām.

Pirmajā veiksmīgā mēģinājumā tika izmantots iepriekš iegūtais 3-N-(2-Hloracetamido)benzantrons (1) un lizīns (2) (8.attēls).

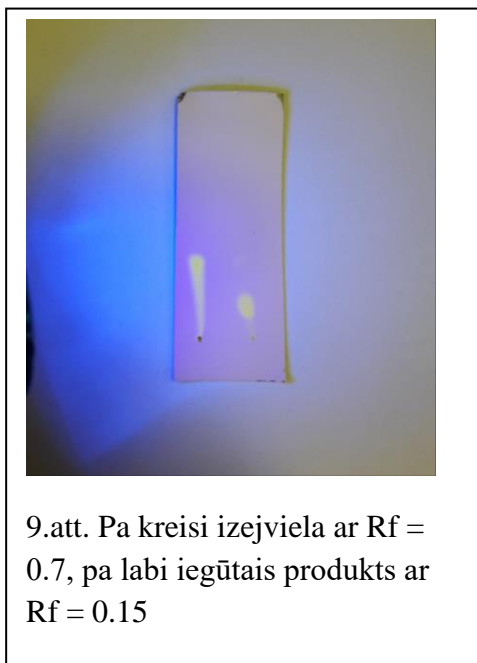


Lai iegūtu vēlamo produktu (2), kā galveno izejvielu izmantoja 1,40 g 3-N-(2-Hloracetamido)benzantronu (1) (8.attēls), kurš tika šķīdināts 20 ml dimetilsulfoksīdā. Reakcijas maisījumam pievienoja 1,40 g lizīna. Šķīdums tika karsēts 120°C temperatūrā eļļas vannā aptuveni stundu (1h). Reakcijas gaitā maisījums pamainīja krāsu no dzeltena uz sarkanu. Iegūtas nogulsnes filtrēja un žāvēja.

Rezultāti un to izvērtējums

Pēc iegūtajiem datiem tika noskaidrots, ka vislabākais šķīdinātājs reakcijai ir dimetilsulfoksīds. Ļoti svarīgi kontrolēt temperatūru līdz 120 °C un bieži pārbaudīt reakcijas gaitu ar plānslāņa hromatogrāfijas palīdzību. Reakcija notiek stundas laikā. Rezultātā ieguvam brūnas krāsas eļļainu galaproduktu ar spilgti dzeltenu luminiscenci.

Veicot plānslāņu hromatogrāfiju zem izejvielas punkta $R_f = 0.7$, parādās jauns (gandrīz tīrs) produkts ar $R_f = 0.15$ ar spilgti dzeltenu luminiscenci (9.attēls).



Iegūti produkti vēl tiks attīrīti ar kolonnas un plānslāņu hromatogrāfijas palīdzību. Produktu analīzē un ķīmiskas struktūras pierādīšanai tiks izmantoti IS un KMR spektroskopija un mass-spektrometrija.

Darbā veiktie spektrālie pētījumi dos iespēju izprast iegūto luminiscējošu krāsvielu īpašības (gaismas absorbcijas spēju, spīdēšanas maksimumus, luminiscences jūtību pret ārējiem apstākļiem) un līdz ar to piemērotību dažādiem praktiskiem pielietojumiem.

Secinājumi

1. Jauniegūtiem atvasinājumiem piemīt intensīvā dzeltenā un zaļā luminiscence organiskajos šķīdinātajos.
2. Tika noskaidrots, dažie reakcijās iegūtie benzantrona savienojumi nav stabili un pēc ilgstošas uzglabāšanas sadalās līdz 3-aminobenzantronam. Šī procesa mehānisma skaidrošanai nepieciešami tālākie pētījumi
3. Tiek sintēzēts jauns 3-N-Acetamidobenzantrona atvasinājums ar lizīna atlikumu.

Literatūra

- [1]. Farr's Physics for Medical Imaging 2nd Edition, Authors: Penelope Allisy-Roberts Jerry Williams, 2007.
- [2]. Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. "THE ESTIMATION OF QUININE IN HUMAN PLASMA WITH A NOTE ON THE ESTIMATION OF QUINIDINE", Authors: BERNARD B. BRODIE and SIDNEY UDEFRIEND, 1943.
- [3]. Advances in Engineering Research. Study on Fluorescence Spectra of B Vitamins. Authors: Yang Hui, Xiao Xue, Hu Lan, and Zhibin Hou. 2016.
- [4]. JACS (Journal of the American Chemical Society). The Fluorescence of Vitamin A. II. Ultraviolet Absorption of Irradiated Vitamin A. Authors: Harry Sobotka, Susan Kann, Wilhelmine Winternitz, Erwin Brand. 1944.
- [5]. SCIENCE. Apparent Concentration Quenching of Morphine Fluorescence. Authors: Brandt R, Olsen MJ, Cheronis ND. 1963.
- [6]. Беляева Елизавета Викторовна. Диссертация. "Производные порфиринов, растворимые во фторуглеродах, как фотосенсибилизаторы для фотодинамической терапии рака", 2017. [Online]. <https://ineos.ac.ru/files/scisecr/belyaeva/diss.pdf> Sk.internetā 07.04.2020.
- [7]. Gufo.me [Online] https://gufo.me/dict/medical_encyclopedia/%D0%9B%D1%8E%D0%BC%D0%B8%D0%BD%D0%B5%D1%81%D1%86%D0%B5%D0%BD%D1%86%D0%B8%D1%8F Sk.internetā 07.04.2020.