

STRESZCZENIE ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Synteza i właściwości pochodnych urydyny modyfikowanych układem fluoroforowym

Autor: Mgr inż. Łukasz Przypis

Promotor: Prof. dr hab. inż. Krzysztof Walczak

Streszczenie

Niniejsza praca stanowi podsumowanie badań nad syntezą karbazolowych pochodnych urydyny. Obecność fluorofora karbazolowego umożliwia rozpatrywanie otrzymanych pochodnych jako nowych sond molekularnych. Praca składa się z opisu badań nad optymalizacją procedur otrzymywania skoniugowanych karbazolowych-urydyn, a także zawiera wyniki dotyczące zbadanych właściwości optycznych i interakcji z DNA/RNA wybranych pochodnych. W pracy doktorskiej podjąłem próbę opracowania metod otrzymywania pochodnych karbazolowych, w których karbazol jest sprzężony z uracylem lub 2'-deoksyurydyną. Biorąc pod uwagę wysoką fotostabilność karbazolu, pochodne te mogą być wykorzystane w sondach molekularnych do badań nad kwasami nukleinowymi lub białkami. Kluczowe w proponowanych badaniach było wytworzenie wiązania węgiel-węgiel między jednostką uracylową, a fragmentem karbazolowym. Na podstawie przeprowadzonych prób wstępnych, obiecujące okazały się reakcje tworzenia wiązania C-C katalizowane związkami metaloorganicznymi palladu. Do syntezy koniugatów wykorzystałem reakcje sprzęgania Suzuki-Miyaura, Sonogashiry i Hecka. W tym celu musiałem otrzymać określone syntony karbazolowe oraz uracylowe, których przygotowanie wymagało przeprowadzenia kilkietapowych syntez. W ramach czego opracowałem nową metodę monojodowania karbazolu, dzięki czemu otrzymałem szereg 3-jodokarbazoli, zawierających podstawniki o zróżnicowanych efektach elektronowych (EDG/EWG). W trakcie prac nad metodą jodowania, zaproponowałem również procedurę otrzymywania boronowych pochodnych, wykorzystując strategię C-H aktywacji karbazolu. W kolejnym etapie badań zoptymalizowałem reakcje prowadzące do końcowych koniugatów - reakcję sprzęgania z wykorzystaniem kompleksów palladu i reakcję Wittiga. Zbadałem również właściwości optyczne zsyntetyzowanych koniugatów - pomiary absorpcji i emisji oraz wyznaczyłem wydajności kwantowe. Koniugaty uracyl-karbazol bezpośrednio sprzężone wiązaniem C-C mają pasma emisji poniżej 400 nm, podczas gdy koniugaty zawierające układ etylenowy lub acetylenowy jako łącznik, wykazują fluorescencję powyżej 410 nm. Poza koniugatem gdzie urydyna jest sprzężona z karbazolem przez łącznik winylowy (**dUvK**), wszystkie pochodne posiadają wydajność kwantową fluorescencji na poziomie około 10%. Największą wartość kwantowej fluorescencji wyznaczyłem dla pochodnej **dUvK**, wynosiła około 15%. W ostatnim etapie projektu sprawdziłem możliwość włączenia jednostki karbazolowej do sekwencji oligonukleotydydowej i zbadałem wpływ jej obecności na właściwości hybrydizacyjne. Jako mimetyk nukleozydu zastosowałem prostą pochodną, 9-(2-hydroksyetylo)-3-(2-tienylo)karbazol, który wprowadziłem w pozycję terminalną 9-merowego oligonukleotydu (**ON3**). Określiłem temperatury topnienia dupleksów z oligonukleotydem **ON3** i komplementarnymi nici DNA (**D0**) lub RNA (**R0**). Potwierdziłem, że jednostka karbazolowa ma korzystny wpływ na tworzenie dupleksu, szczególnie hybryd DNA oraz posiada właściwości dyskryminujące względem niedopasowanych nici (pojedyncze nukleotydy, *mismatching*), co potwierdza, że uzyskane koniugaty można wykorzystać jako potencjalne sondy molekularne.