

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра хімії

Кваліфікаційна робота / проект
магістр

на тему ФЛУОРЕСЦЕНТНІ ВЛАСТИВОСТІ ПОХІДНИХ АКРИДИНУ

Виконала : студентка 2 курсу, групи 8.1028-з
спеціальності 102 Хімія

освітньої програми 102 Хімія

Сухенко В. С.

Керівник доцент, доцент, к.фарм.н. Панасенко Т. В.

Рецензент доцент, доцент, к.хім.н. Луганська О. В.

Запоріжжя

2020

ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Біологічний факультет
Кафедра хімії
Рівень вищої освіти магістр
Спеціальність 102 Хімія
Освітня програма Хімія

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри хімії, д-р. біол. наук, проф.

О.А. Бражко

«26» квітня 2019 року

ЗАВДАННЯ НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ

Сухенко Валентині Сергіївні

1. Тема роботи: Флуоресцентні властивості похідних акридину

керівник роботи Панасенко Тамара Володимирівна, к.фарм.н., доцент
затверджена наказом ЗНУ від « 25 » травня 2019 року № 772-с

2. Строк подання студентом роботи 27 грудня 2019 року

3. Вихідні дані до роботи: огляд наукової літератури щодо методів синтезу, фізико-хімічних, біологічних та люмінесцентних властивостей похідних акридину.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): провести огляд наукових джерел щодо люмінесцентних та біологічних властивостей похідних акридину, провести синтез сполук на основі акридин-9(10H)-онів, описати фізико-хімічні властивості ресинтезованих сполук за допомогою ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії, ІЧ-спектроскопії, елементного аналізу, хроматографічного методу, дослідити оптичні та люмінесцентні властивості біологічно активних сполук, проаналізувати їх показники (максимуми в спектрах абсорбції і люмінесценції, квантовий вихід, зсув Стокса), розробити методику фарбування клітин з використанням ресинтезованих люмінофорів та оцінити їх ефективність.

5. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень):
Таблиця 3.1. Рисунок 1.1-1.23, 2.1, 3.1-3.8

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		Завдання видав	завдання прийняв
4	Карпенко Ю.В., к.хім.н., викладач		

7. Дата видачі завдання 15.10.2019 р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1.	Огляд літературних джерел. Написання відповідного розділу роботи.	жовтень – листопад 2018	Виконано
2.	Вивчення, засвоєння методик дослідження. Написання відповідного розділу роботи.	грудень 2018 – січень 2019	Виконано
3.	Засвоєння правил техніки безпеки під час виконання експериментальної частини. Написання відповідного розділу роботи.	лютий 2019	Виконано
4.	Проведення експериментальних досліджень. Оформлення результатів експерименту (таблиці, рисунки). Написання відповідного розділу роботи.	березень – червень 2019	Виконано
5.	Оформлення кваліфікаційної роботи. Передзахист роботи.	вересень – грудень 2019	Виконано
6.	Рецензування кваліфікаційної роботи	грудень 2019	Виконано
7.	Захист кваліфікаційної роботи	січень 2020	Виконано

Студент

В. С. Сухенко

Керівник роботи _____

Т. В. Панасенко

Нормоконтроль пройдено

Нормоконтролер _____

Ю. В. Карпенко

РЕФЕРАТ

В роботі 68 сторінок, 1 таблиця, 32 рисунків, було використано 70 літературних джерел, 30 з них на іноземній мові.

Об'єкт дослідження – ресинтезовані сполуки на основі 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10H)-онів.

Предмет дослідження – хімічні перетворення 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10H)-онів, оптичні та спектральні методи.

Мета роботи – ресинтез нових 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10H)-онів та їх похідних, дослідження їх фізико-хімічних і оптичних властивостей та пошук нових флуоресцентних барвників.

Методи досліджень та апаратура – хімічні методи (реакції циклізації, нейтралізації, естерифікації, алкілування), фізико-хімічні методи (люмінесцентний метод, ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопія, ІЧ-спектроскопія, елементний аналіз, хроматографічний метод), лабораторні терези, хімічний посуд, бюретка, водяна баня.

В результаті експериментальних досліджень було ресинтезовано нові 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10H)-онів та їх тіо - похідні. Проведено спектральний аналіз, вивчено оптичні властивості сполук та досліджено фарбування клітин з використанням флуоресцентних барвників на основі ресинтезованих сполук.

СИНТЕЗ, ФЛУОРЕСЦЕНТНИЙ БАРВНИК, ЛЮМІНЕСЦЕНТНИЙ МЕТОД, АКРИДИН-9(10H)-ОН, 1,3,4-ОКСАДІАЗОЛ, ОПТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ.

ABSTRACT

The paper have 68 pages, 1 table, 32 figures, 70 literary sources were used, 30 of which are in a foreign language.

Object of the study – resynthesized compounds based on 10-((1,3,4-oxadiazol-2-yl) methyl) acridine-9(*10H*)-ones.

The subject of the study is the chemical transformations of 10-((1,3,4-oxadiazol-2-yl) methyl)acridine-9(*10H*) -ones, optical and spectral methods.

The aim of the work is the resynthesis of new 10-((1,3,4-oxadiazol-2-yl) methyl)acridine-9(*10H*)-ones and their derivatives, the study of their physicochemical and optical properties and the search for new fluorescent dyes.

Research methods and apparatus chemical methods (cyclization, neutralization, esterification, alkylation reactions), physico-chemical methods (luminescent method, ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy, IR spectroscopy, elemental analysis, chromatographic method), laboratory scales, chemical vessels burette, water bath.

As a result of the experimental research was new 10-((1,3,4-oxadiazol-2-yl) methyl) acridine-9(*10H*)-ones and their thio derivatives were resynthesized. Spectral analysis was performed, the optical properties of the compounds were investigated, and cell staining was investigated using fluorescent dyes based on resynthesized compounds.

SYNTHESIS, FLUORESCENT DYE, LUMINESCENT METHOD, ACRIDINE-9(*10H*)-OH, 1,3,4-OXADIAZOLE, OPTICAL PROPERTIES.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	8
ВСТУП.....	9
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	12
1.1 Сучасні аспекти дослідження акридинів та їх похідних	12
1.1.1 Загальна характеристика акридину та номенклатура.....	12
1.1.2. Методи синтезу акридину	12
1.1.3. Фізичні та люмінесцентні властивості акридину	16
1.1.4.Хімічні властивості акридину.....	18
1.1.5. Біологічна та фармакологічна активність акридину та його похідних	20
1.1.5.1 Протипухлинна активність	20
1.1.5.2 Протималарійна та протитуберкульозна активність	22
1.1.5.3 Противірусна та антибактеріальна активність.....	23
1.1.5.4 Інгібіторна активність ацетилхолінестерази	26
1.2 Люмінофорні властивості акридинового оранжевого	26
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	29
2.1 Визначення температури плавлення	29
2.2 Елементний аналіз.....	31
2.3 Ядерний магнітний резонанс	33
2.4 ІЧ-спектроскопія	34
2.5 Люмінесцентний аналіз.....	35
2.6 Методи фарбування та оцінювання клітин	36
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	37
3.1 Реакція гідразидів 2-(2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)ацетатної кислоти з карбон дисульфідом.....	37
3.2 Синтез 3-((5-((2-R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2- іл)тіо)пропанових кислот.....	38

3.3 Синтез солей 3-((5-((2- <i>R</i> -9-оксоакридин-10(9 <i>H</i>)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот	39
3.4 Синтез естерів 3-((5-((2- <i>R</i> -9-оксоакридин-10(9 <i>H</i>)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот	41
3.5 Оптичні властивості 3-((5-((2- <i>R</i> -9-оксоакридин-10(9 <i>H</i>)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)пропанових кислот та їх похідних	42
3.6 Оцінка флуоресценції клітин пофарбованих ресинтезованим люмінофором	46
3.7 Опис експериментів	48
4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ	52
ВИСНОВКИ	58
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	60
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ	61

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

КА – карбоксиакридин

АО – акридиновий оранжевий

АОК – акридиноцтова кислота

ДНК – дезоксирибонуклеїнова кислота

НК – нуклеїнова кислота

РНК – рибонуклеїнова кислота

УФ – ультрафіолет

ЯМР – ядерно-магнітний резонанс

ЦФБ – цитратно-фосфатний буфер

БСС – білок-синтетична система

ВСТУП

Серед великої кількості вивчених сполук, можна виділити клас похідних акридину. Це один з найбільш давно досліджуваних класів гетероциклічних сполук і з огляду на постійні публікації робіт по синтезу та аналізу їх біологічної активності, можна стверджувати, що це перспективний клас біологічно активних речовин. Велике значення сполуки акридину мають в медицині: це препарати з широким спектром біологічної активності, наприклад: протипухлинні – амсакрин, антидепресанти – диметакрін, антисептичні – риванол, ноотропні - такрин, протималарійні – акрихін [1, 2]. Особливе місце займають солі акридоноцтової кислоти, які використовуються в препаратах Циклоферон і Неовір, та проявляють противірусну та імуномодулюючу дію, при цьому практично не роблять шкідливого впливу на організм людини [3]. Таким чином, акридиновий фрагмент є універсальною фармакофорною групою з широким спектром біологічної активності.

Слід відзначити застосування сполук акридину в якості флуоресцентних барвників у аналітичній сфері, для якісної та кількісної оцінки нуклеїнових кислот (НК), ідентифікації антитіл в імунологічних дослідженнях [4]. Використання акридинового оранжевого (АО) дозволяє виявити нуклеїнові кислоти (НК), тобто встановити співвідношення ДНК та РНК у білок-синтезуючій системі клітини за рахунок двохвильової люмінесценції. Люмінофор адсорбується НК і нуклеопротейдами, надаючи їм відповідного світіння. Ядерна ДНК дає при цьому яскраво-зелену люмінесценцію (530 нм), протоплазматична РНК світиться червоним світлом (640 нм), що дозволяє певною мірою ідентифікувати НК в досліджуваних клітинах [5]. Але слід зазначити, що АО має не має здатності до вибіркового пофарбування структур ядра клітини і потребує чіткої методики фарбування та рН при якому флуорохром буде зв'язуватися з НК, а не з протеїнами в ядрі та протоплазмі.

Похідні акридону проявляють сильну флуоресценцію і можуть бути застосовані в якості індикаторів і високоселективних хемосенсорів. Акридин-9(10H)-он дуже фотостабільний, має високу флуоресценцію при 550 нм, але через погану розчинність не може бути обраний еталонним зразком для люмінесценції [6].

Аналіз даних, наведених в літературному огляді, дозволяє стверджувати, що пошук нових біологічно активних похідних акридину є актуальним завданням. Крім того, аналіз літературних даних показав, що відомі синтетичні методи потребують подальшого розвитку з метою отримання недоступних раніше біологічно активних речовин ряду акридину та нових флуоресцентних барвників для спектральних методів дослідження [7].

Метою даної роботи є ресинтез нових 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10H)-онів та їх похідних, дослідження їх фізико-хімічних і оптичних властивостей та пошук нових флуоресцентних барвників.

Для досягнення поставленої мети поставлено наступні завдання:

- 1) провести огляд наукових джерел щодо люмінесцентних та біологічних властивостей похідних акридину;
- 2) провести синтез сполук на основі акридин-9(10H)-онів;
- 3) описати фізико-хімічні властивості ресинтезованих сполук за допомогою ^1H та ^{13}C ЯМР-спектроскопії, ІЧ-спектроскопії, елементного аналізу, хроматографічного методу;
- 4) дослідити оптичні та люмінесцентні властивості біологічно активних сполук, проаналізувати їх показники (максимуми в спектрах абсорбції і люмінесценції, квантовий вихід, зсув Стокса);
- 5) розробити методику фарбування клітин з використанням ресинтезованих люмінофорів та оцінити їх ефективність.

Об'єкт дослідження – ресинтезовані сполуки на основі 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10H)-онів.

Предмет дослідження – хімічні перетворення 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10*H*)-онів, оптичні та спектральні методи.

Методи дослідження. Дослідження виконано з використанням хімічних методів (реакції циклізації, нейтралізації, естерифікації, алкілування), фізико-хімічні методи (люмінесцентний метод, ¹H та ¹³C ЯМР-спектроскопія, ІЧ – спектроскопія, елементний аналіз, хроматографічний метод).

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що вперше ресинтезовані сполуки 10-((1,3,4оксадіазол-2-іл)метил)-2-*R*-акридин-9(10*H*)-они та їх тіо- похідні з подальшим вивченням їх фізико-хімічних властивостей. Вперше досліджено люмінесцентні характеристики ресинтезованих сполук (максимуми в спектрах абсорбції ($\lambda_{\text{погл.}}$) і люмінесценції ($\lambda_{\text{фл.}}$), квантовий вихід (ϕ) та зсув Стокса).

Практичне значення – Досліджено фізико-хімічні властивості ресинтезованих сполук на основі 10-((1,3,4оксадіазол-2-іл)метил)-2-*R*-акридин-9(10*H*)-они та їх тіо- похідних. Запропоновано сполуки, як нові флуоресцентні барвники, які придатні для застосування при медико-біологічних дослідженнях.

Матеріали роботи були представлені на таких конференціях: II Міжнародна наукова конференція «Сьогодення біологічної науки» (м. Суми, 09-10 листопада 2018), Міжнародна наукова конференція «Динаміка розвитку сучасної науки» (м. Чернігів, 15 листопада 2019).

1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Сучасні аспекти дослідження акридинів та їх похідних

1.1.1 Загальна характеристика акридину та номенклатура

Акридин – органічна ароматична сполука, що відноситься до класу шестичленних гетероциклів з одним гетероатомом, оскільки являє собою конденсовану систему з двох бензольних (ароматичних) і одного піридинового ядер. Акридин структурно пов'язаний із антраценом, але відрізняється заміною одної з центральних СН-груп на атом Нітрогену [8].

Нумерацію атомів проводять таким чином, щоб Нітроген отримав найбільший номер 10. Положення 9 і 10 в структурі гетероциклу є мезо-положеннями [8] (рис.1).

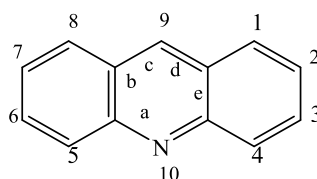


Рисунок 1.1 – Будова акридину [8]

1.1.2. Методи синтезу акридину

Незважаючи на те, що акридин міститься в кам'яновугільній смолі, його похідні і сам акридин отримують синтетично з похідних бензолу. У міру вивчення властивостей акридину і розвитку науки потреби в синтезі збільшувалися. На це вплинуло відкриття антималярійних, антисептичних, протиракових властивостей похідних акридину, тому вчені постійно вдосконалюють методи синтезу [9].

Із літературних джерел відомо декілька найпоширеніших методів синтезу похідних акридину.

1. Конденсація дифеніламіну з карбоновими кислотами.

Відкрив цей метод Бернстен в 1884 році. При нагріванні дифеніламіну з метановою кислотою в присутності цинк хлориду утворюється акридин. Конденсація з іншими карбоновими кислотами дає змогу отримати 9-R-заміщені акридини [10].

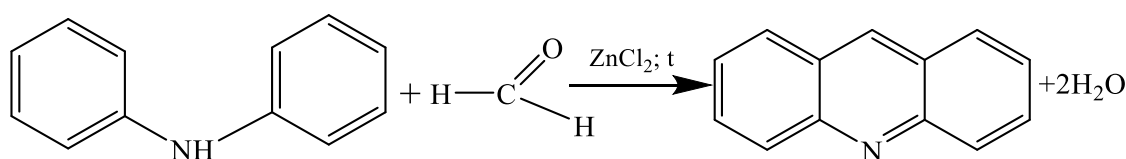


Рисунок 1.2 – Схема синтезу акридину за реакцією Бернстена [10]

Реакція Бернтсена є одним з найпростіших способів синтезу похідних акридину. Ця реакція в даний час широко використовується хіміками, незважаючи на жорсткі умови виконання. Спроби оптимізувати реакцію Бернтсена заміною цинк хлориду на фосфорну кислоту не дозволили зменшити температуру реакційної системи. При цьому виходи виявилися досить низькими. Також випробовувалися інші потенційні каталізатори при термічному і мікрохвильовому впливі. Найкращі результати були досягнуті з використанням п-толуолсульфоною кислотою в умовах мікрохвильового випромінювання [11].

2. Циклізація N-фенілантранілової кислоти

Метод запропонований в 1933 році А.М. Григоровським та О.Ю.Магідсон. Метод заснований на циклізації N-фенілантранілової кислоти за допомогою фосфору трихлороксиду POCl_3 . Реакція протікає через стадію утворення хлорангідриду N-фенілантранілової кислоти та 9-гідроксиакридину (рис.1.3). Кінцевий продукт синтезу – 9-хлоракридин [9].

В молекулі 9-хлоракридину хлор володіє значно рухливий та може бути легко заміщеним на атом Гідрогену, гідрокси-, алкокси- та аміногрупу. [8] (рис. 1.3).

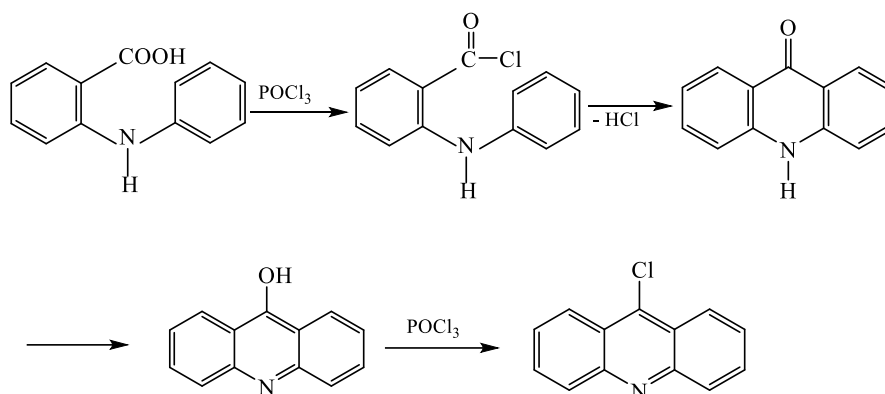


Рисунок 1.3 – Схема циклізації N-фенілантранілової кислоти [9]

Для отримання різних похідних акридину з замісниками в бензольних кільцях циклізації підлягають відповідні заміщені N-фенілантранілові кислоти.

1. Синтез акридону методом карбонілування дифеніламіну

Ефективний паладій або мідь спільно каталізують метод карбонілування дифеніламіну для синтезу акридонів, який був розроблений китайськими вченими [12]. Цей метод використовує доступні вихідні матеріали, і реакція протікає в м'яких умовах. Метод забезпечує простий, ефективний і атом-економічний спосіб синтезу акридонів (рис. 1.4).

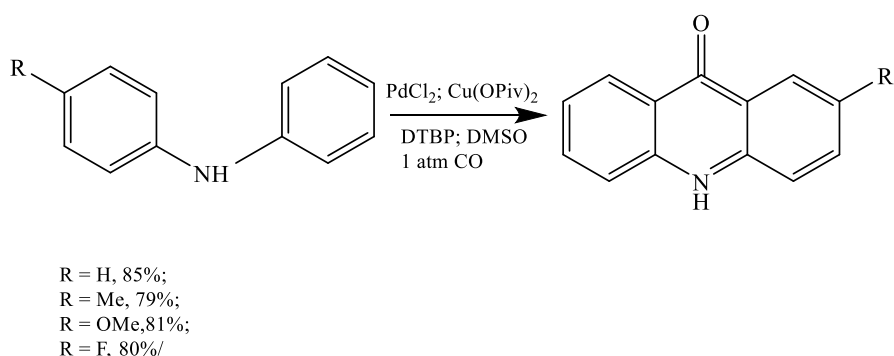


Рисунок 1.4 – Схема синтезу акридону методом карбонілування дифеніламіну [12]

В якості каталізатора кращі результати показали паладій хлорид спільно з купрум (II) півалат ($\text{Cu}(\text{OPiv})_2$). В якості окиснювача використовують дитрет-бутил пероксид (DTBP). Реакцію проводять в диметилсульфоксиді (DMSO) при 1 атм. СО протягом 24 годин [12].

2. Метод синтезу акридинів та заміщених акридонів

Вченими [13] був розроблений метод прямого арил-альдегід внутрішньо - молекулярного утворення $\text{Csp}^2\text{-Csp}^2$ зв'язку, що не включає використання каталізаторів металів (рис. 1.5). Для цього методу було використана гіпервалентна сполука йоду $\text{PhI}(\text{OAc})_2$. Перекис бензоїлу значно збільшує вихід продуктів реакції. Реакцію проводять в DMF (диметилформаміді) на повітрі, в результаті з альдегіду можливе отримання як акридину, так і заміщених акридонів.

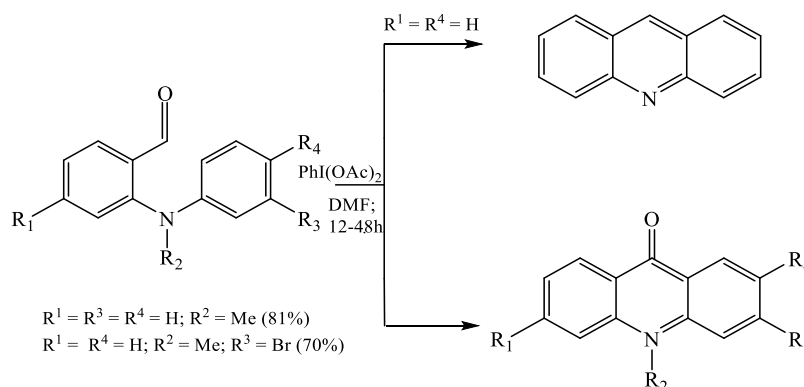


Рисунок 1.5 – Схема прямого синтезу акридину та заміщених акридонів [13]

Цей метод не потребує додаткової активації альдегідної групи і може бути застосований для широкого кола субстратів, що забезпечує доступ до синтезу біологічно активних похідних акридона.

3. Метод синтезу солей похідних акридин -9 -карбонової кислоти

Оригінальним способом отримують 9-КА (9-карбоксіакридин) (рис. 1.6).

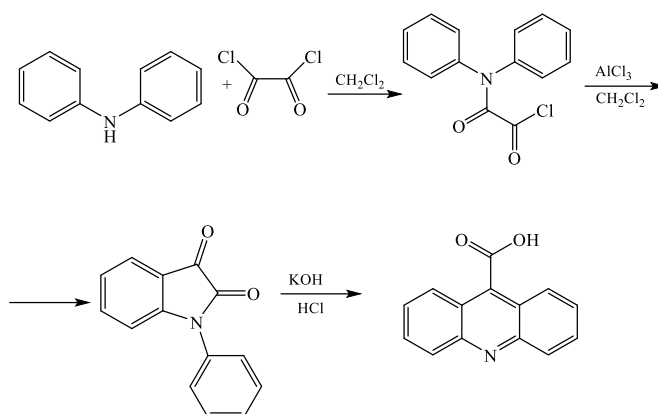


Рисунок 1.6 – Схема синтезу 9 – карбоксиакридинової кислоти [14]

Для цього дифеніламін ацилюють оксалилхлоридом, а потім за допомогою алюміній хлориду проводять внутрішньо-молекулярну реакцію Фріделя-Крафтса. Отриманий N-фенілізатин в розчині KOH перегрупується в 9-КА. Для отримання похідних 9-КА вихідну кислоту переводять в реакційноздатний хлорангідрид [14]. Так як четвертинні солі похідних акридин-9-карбонової кислоти проявляють хемолюмінесцентні властивості, то вони можуть бути застосовані в якості люмінофорів [15].

1.1.3. Фізичні та люмінесцентні властивості акридину

Акридин – світло-жовта кристалічна речовина з характерним запахом, що викликає роздратування дихальних шляхів та шкіри. Температура плавлення речовини $111\text{ }^\circ\text{C}$, а кипіння відповідно $345\text{--}346\text{ }^\circ\text{C}$. Добре розчинний в органічних розчинниках, мало розчинний у воді [8].

Розчини акридину мають флуоресцентні властивості. Тому їх часто застосовують як люмінесцентні мітки. Розбавлені розчини мають синю флуоресценцію. Розчини солей мають зелену флуоресценцію, а при розведенні водою відбувається гідроліз і зелена флуоресценція переходить в синю, характерну для вільного акридину [16].

На ступінь люмінесценції та колір світіння речовини безпосередньо впливає рН розчину (рис.1.7).

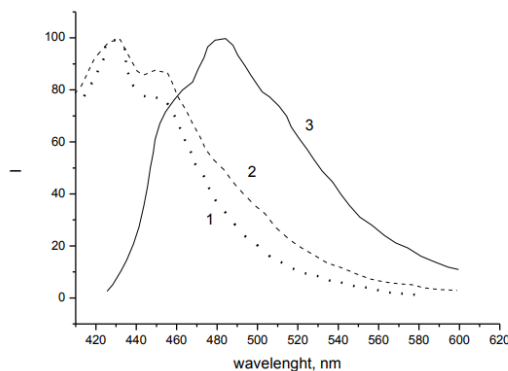


Рисунок 1.7 – Залежність спектрів люмінесценції акридину від величини рН розчину: 1 – в воді, рН = 10; 2 – в воді, рН = 7; 3 – в 5н НСІ [17]

Акридинові сполуки представляють собою слабкі основи, внаслідок чого в лужному середовищі їх молекули не іонізовані; іонізація настає при зменшенні величини рН розчину і супроводжується суттєвими змінами форми і розміщення спектрів люмінесценції. Слід також відзначити, що міцність утримання протону в збудженому стані у акридину при збудженні збільшується [17] ($pK^* > pK$).

В нейтральному водному розчині акридину максимуми спектру флуоресценції розташовані у λ 430, 455 і 475 нм, а в кислому розчині у λ 457, 484, 505 і 515 нм [17]. Зменшення величини рН шляхом введення невеликої кількості кислоти призводить до утворення моноіонів акридину, у яких протон приєднаний до кільцевого атому Нітрогену. На рисунку 1.7 видно, що такий перехід від не іонізованої молекули акридину до іона ($pH \approx 7$), супроводжується зміщенням спектра флуоресценції, подібно спектру поглинання, в сторону довгих хвиль [17,18].

Люмінесцентні властивості N-гетероциклічних сполук сильно відрізняються від властивостей їх вуглеводневих аналогів. Їх люмінесценція в значній мірі визначається відносним розташуванням π^* - і π^* -рівнем. У

системах з одним гетероатомом в міру збільшення π -системи енергія $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходів зменшується швидше, ніж енергія $n \rightarrow \pi^*$ -переходів. Це може служити додатковим критерієм для відмінності $n\pi^*$ - і $\pi\pi^*$ - смуг. У акридину нижчим триплетним станом є $T_{\pi\pi^*}$ -стан, тому у них можлива лише тривала $\pi\pi^*$ -фосфоресценція. Люмінесцентні властивості таких молекул з чималою π -системою, у яких енергія $S_{\pi\pi^*}$ -стану менше енергії $S_{n\pi^*}$ і $T_{n\pi^*}$ - станів, подібні до властивостей молекул відповідних вуглеводнів [18].

Спектр поглинання акридину подібний зі спектром антрацену, що є його вуглеводневим аналогом. У вуглеводневих розчинах акридину при кімнатній температурі флуоресценція виявляється слабкою, але значно посилюється в спиртових розчинах [19]. Про фосфоресценції акридину даних немає, але наймовірніше очікувати її в ближній ІЧ-області, як і у антрацену. Відсутність флуоресценції у розчинів акридину в вуглеводнях може вказувати на те, що енергія $T_{\pi\pi^*}$ -стану близька до енергії $S_{\pi\pi^*}$ -стану [17-20].

1.1.4. Хімічні властивості акридину

Оскільки акридин відноситься до гетероароматичних сполук за участю неподіленої пари електронів атома Нітрогену він проявляє слабкі основні та нуклеофільні властивості і утворює солі з сильними кислотами і алкілгалогенідами [21].

В реакції електрофільного заміщення акридин вступає з великими труднощами і неоднозначно. При реакціях нітрування утворюється суміш ізомерних нітроакридинів з вмістом переважно 2-нітроакридину. Реакції нуклеофільного заміщення для акридину йдуть досить легко в положенні 9. Наприклад, при дії на акридин натрій амід утворюється 9-аміноакридин [8].

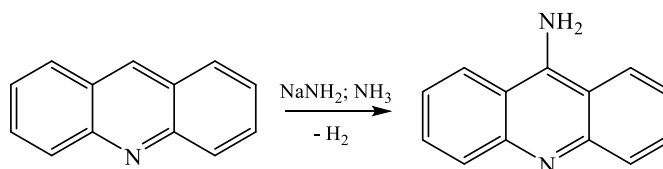


Рисунок 1.8 – Схема реакції електрофільного заміщення [8]

Реакції окиснення за акридиновим ядром протікають з великими труднощами, оскільки воно досить стійке до окиснення. Під дією калій дихромату в оцтовокислому середовищі акридин окислюється в 9-акридон (рис. 1.9), який є таутомерною речовиною і існує в двох формах – гідрокси- і оксоформах [22].

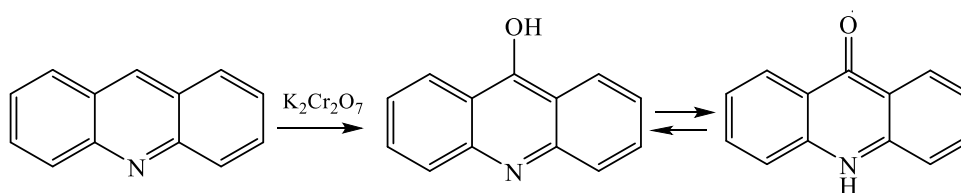


Рисунок 1.9 – Схема реакції окиснення акридину [22]

В присутності органічних пероксикислот акридин окислюється по гетероатому з утворенням N-оксиду [22]. При окисненні в жорстких умовах відбувається часткове руйнування акридинового ядра (рис. 1.10), а продуктом окиснення є 2,3-хіноліндікарбонова кислота (акридинова кислота) [22].

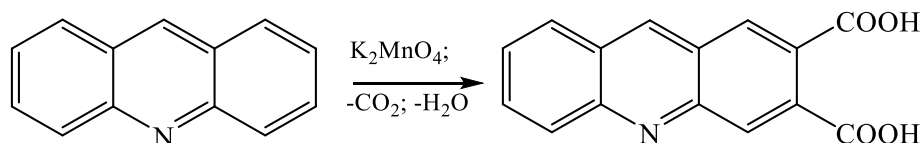


Рисунок 1.10 – Схема окиснення акридину з частковим руйнуванням ядра [22]

Реакції відновлення акридину протікає по положенням 9 і 10 під дією натрію в спиртовому розчині або при каталітичному гідруванні акридин перетворюється в 9,10-дигідроакридин, акридан (рис. 1.11) [21].

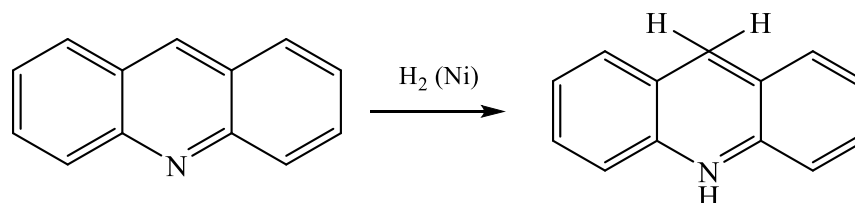


Рисунок 1.11 – Схема реакції відновлення [21]

1.1.5. Біологічна та фармакологічна активність акридину та його похідних

1.1.5.1 Протипухлинна активність

Сучасні дослідження проводяться в напрямку синтезу нових протівірусних та протипухлинних препаратів акридинового ряду і вивчення взаємодії сполук цієї групи з системою ДНК-РНК активно тривають [23]. На теперішній час ведеться розробка комплексних препаратів солей акридинової кислоти, які не тільки стимулюють протівірусну резистентність організму, але і володіють прямою специфічною протівірусною активністю [1].

Похідні акридину завдяки відносно плоскій будови молекули володіють інтеркаляційними властивостями [18]. Тобто здатність до інтеркаляції в молекулу ДНК чи РНК обумовлює наявність у даного класу сполук протипухлинної дії. Численні дослідження аніліноакридинів показують, що вони мають переважно протипухлинну активність [23].

Амсакрин (m-AMSA) 89 (рис. 1.12) активний проти клітинних ліній L1210 і P388 лейкозу, В16 меланоми, карциноми легенів Льюїса, карциноми молочної залози CD8F1 і раку товстої кишки [24].

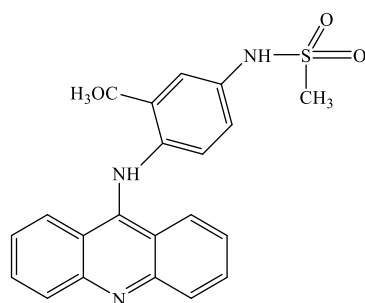


Рисунок 1.12 – Схема будови фармацевтичного препарату амсакрину (m-AMSA) [24]

Проводилась оцінка серії 9-N-арил-4-карбоксамідів на інгібуючу активність проти клітин раку легенів (A-549) і раку шийки матки (HeLa). Синтезований ряд таких амідів. Три сполуки структури, де R = 3'-CF₃, 4'-COOH, 3'-Cl (рис. 1.13) були обрані для їх оцінки протиракової активності. Дані сполуки показують хорошу активність *in vitro* щодо обраних клітинних ліній [25].

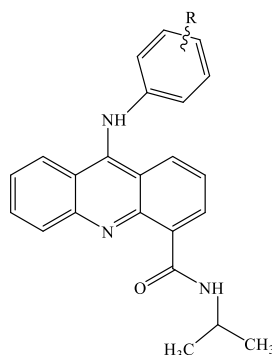


Рисунок 1.13 – Схема будови 9-N-арил-4-карбоксаміду [25]

Цікавим дизайном і біологічними властивостями володіє фармацевтичний препарат вінбластин (рис. 1.14), синтезована науковцями [26]. Сполука представляє собою молекулу акридону пов'язану аліфатичним містком з амінами. Дана група сполук підвищує ефективність дії препарату в клітинах раку KBChR-8-5. Слід зазначити, що група -OCH₃ в 4-му положенні акридону збільшує цитотоксичну дію на клітини. Так само корисною цитотоксичною

активністю володіє серія аналогічних сполук, які містять атом флуору у 2-му положенні акридину [26, 27].

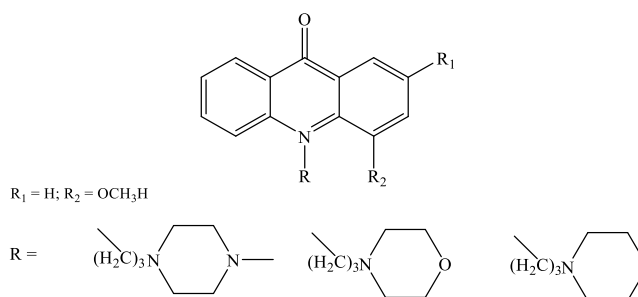


Рисунок 1.14 – Схема будови протипухлинного препарату вінбластину [26]

Проведено синтез величезної кількості сполук і досліджень біологічної активності похідних акридину, що ще раз підкреслює актуальність подальших робіт в цій галузі. Зокрема, в даний час використовуються в клінічній медицині: антиретровірусний агент – Raltegravir, протираковий агент – Zibotentan [23]. Синтез і вивчення протипухлинних властивостей цього класу є одними з головних напрямків у вивченні біологічної дії сполук акридину.

1.1.5.2 Протималярійна та протитуберкульозна активність

Активні дослідження протималярійних властивостей акридину почалися після відкриття препарату мепакрин (рис. 1.15) [28].

Потім була відкрита протималярійна дія піриноакридинів, яка перевищує в кілька разів активність хлорохіну. Токсичність сполук при цьому в 2 рази нижча хлорохіну [29].

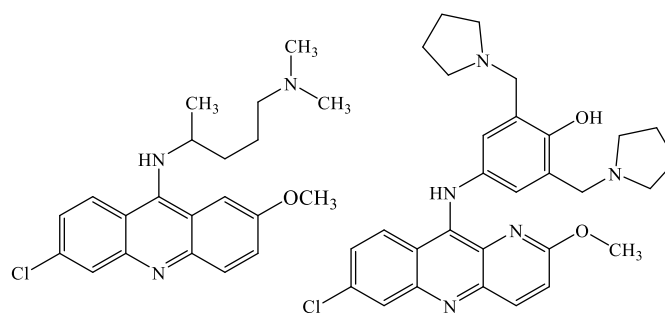


Рисунок 1.15 – Схема будови лікарського препарату мепакрин та піриноакридинів [28, 29]

N-додецил-1,2,3,4-тетрагідроакридин-9-амін (рис. 1.16) пригнічує ріст бактерій туберкульозу в концентрації 0.78 $\mu\text{g} / \text{ml}$, що є хорошим результатом для подальших розробок в цьому напрямку [30, 31].

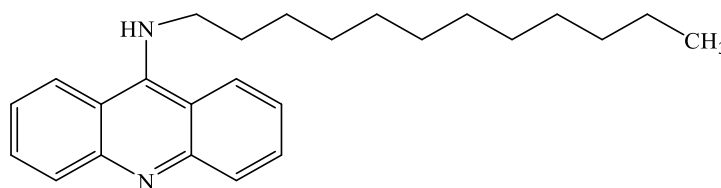


Рисунок 1.16 – Схема будови N-додецил-1,2,3,4-тетрагідроакридин-9-амін [30]

1.1.5.3 Протівірусна та антибактеріальна активність

Широке поширення набув протівірусний препарат (рис. 1.17) циклоферон – метилглюкозамінова сіль акридиноноцтової кислоти [32]. Цей препарат має не тільки протівірусну, але і імуномодулюючу дію. Цікаво відзначити, по здатності до індукції інтерферонів, циклоферон навіть перевершує аналогічний, широко поширений препарат аміксин [33]. Варто відзначити схожу структуру цих препаратів: трициклічні, плоскі, наявність ліпофільного кільця, поєднання з гідрофільними групами.

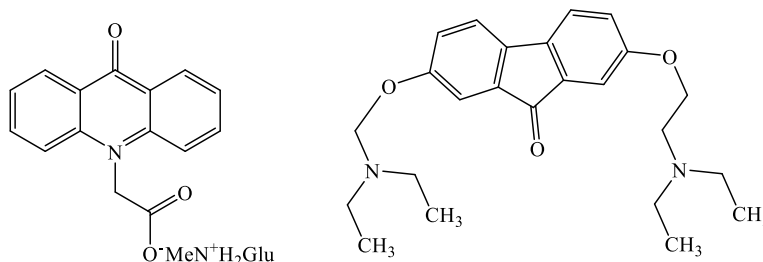


Рисунок 1.17 – Схема будови фармацевтичного препарату циклоферону та аміксину [32, 33]

Окремо слід відзначити незаміщену акридиноцтову кислоту (АОК). АОК має високу біологічну активність, гіпоалергенність, низьку токсичність. Дана особливість АОК пояснюється поєднанням в її структурі високої ліпофільності, за рахунок плоского трициклічного акридинового ядра і гідрофільності за рахунок кільцевої кетогрупи ($C_9 = O$), а також залишку оцтової кислоти у атома Нітрогену. Саме наявність такої хімічної структури дозволяє АОК проявляти високу біологічну активність, що сприяє легкому проникненню її молекул в органи і тканини, а також взаємодіяти з рецепторами клітини і впливати на метаболізм організму в цілому [32].

Класичним прикладом антисептичного препарату є 2-етокси-6,9-діаміноакридину лактат – риванол (рис. 1.18). Він застосовується в дерматології, урології, гінекології, хірургії, як зовнішній антисептичний засіб [34].

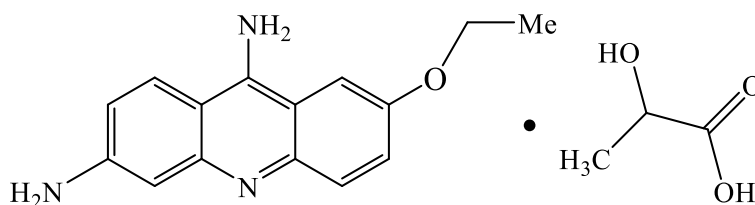


Рисунок 1.18 – Схема будови фармацевтичного препарату риванолу [34]

Серія імідазоакридинів (рис. 1.19) високоактивна до патогенних мікроорганізмів *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, і *Bacillus subtilis* і перевищує по активності стрептоміцин [35].

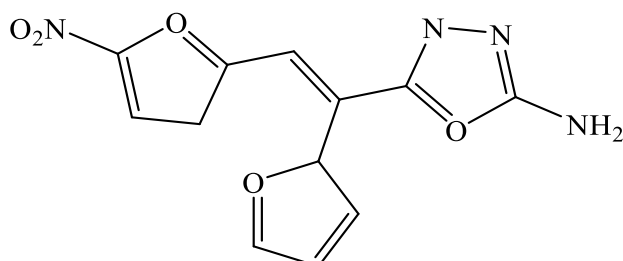


Рисунок 1.19 – Схема будови імідазоакридину [35]

Біологічні експерименти зі сполуками ряду акридин-9(10H)-ону, проведені вченими [36, 37] виявили, що похідні 2-карбоксиакридин-9(10H)-ону проявляють високу антибактеріальну активність по відношенню до *E.coli* і *S.aureus* порівнянну з еталонним антимікробним препаратом ампіциліном, а також показали фунгіцидну активність, яка виявилася на рівні активності, що проявляється протигрибковим препаратом флуконазолом по відношенню до *Gibberela*, *P.piricola*, *F.oxysporum*.

Похідні 1,3,4-оксадіазолів володіють широким спектром біологічного дії: антибактеріальною, протигрибковою, знеболюючою, протівірусним, протипухлинною, гіпотензивною, протисудорожною дією. На рис. 1.20 наведена схема будови фурамізолу, як представника данного класу сполук.

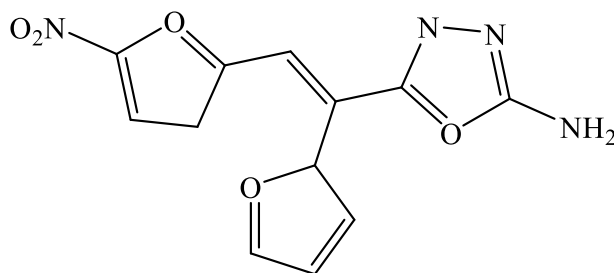


Рисунок 1.20 – Схема будови фурамізолу

1.1.5.4 Інгібіторна активність ацетилхолінестерази

Велике значення в медичній практиці отримав 9-аміно-1,2,3,4-тетрагідроакридин – такрин. Такрин застосовується для лікування хвороби Альцгеймера. Він легко синтезується з нітрилу антранілової кислоти і циклогексанону в присутності цинк хлориду (рис. 1.21) [38].

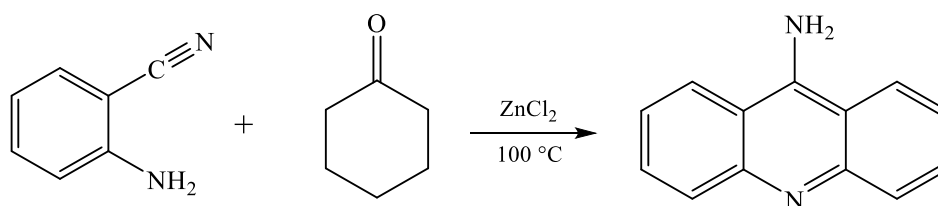


Рисунок 1.21 – Схема синтезу фармацевтичного препарату такрину [38]

З огляду на актуальність лікування хвороби Альцгеймера, вчені постійно намагаються синтезувати на основі такрину більш ефективні препарати. Незважаючи на широкий спектр біологічної активності і великої кількості робіт в перерахованих вище напрямках, ведуться дослідження похідних акридину на найрізноманітніші види біологічної активності [39].

1.2 Люмінофорні властивості акридинового оранжевого

На сьогодні в люмінесцентному методі продовжують використовувати люмінофор АО.

За хімічною будовою АО гетероцикл (рис. 1.22), що і визначає характерні особливості даного люмінофору [40]. До них відноситься те, що він:

- 1) володіє суворою цитохімічною специфічністю;
- 2) дає яскраві та чіткі люмінесцентномікроскопічні картини, які одержують за його допомогою;
- 3) додає ДНК і РНК різне світіння при різних спектрах поглинання

світла;

4) відсутність вицвітання препарату (особливо під дією збудливого світла).

Особливістю АО є його здатність існувати в розчині як в мономерній, так і в димерній формі. Максимум люмінесценції мономерів лежить в зеленій області спектра (530 нм), а для димерної форми характерна червона люмінесценція з максимумом випромінювання 640 нм. Співвідношення концентрацій мономерів і димерів залежить від концентрації люмінофору в розчині [41].

Важливо відзначити, що мономерна форма, яка існує в сильно розбавлених розчинах, має наступні оптичні властивості: максимум поглинання 494 нм, час життя збудженого стану $\tau = 2 \times 10^{-9}$ с, максимум люмінесценції 530 нм. У концентрованих розчинах АО існує в димерній формі з іншими оптичними характеристиками: максимум поглинання 465 нм, максимум люмінесценції 640 нм, час життя збудженого стану $\tau = 20 \times 10^{-9}$ с [42].

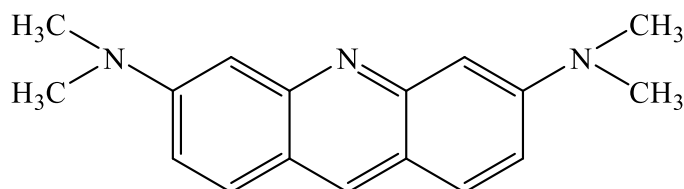


Рисунок 1.22 – Будова акридин оранжевого [40]

При обробці АО гістологічних препаратів виникає червона і зелена люмінесценція різних клітинних структур [40; 43]. Це пов'язано з тим, що зелена люмінесценція характерна для комплексу АО з ДНК, в той час як червона для комплексу з РНК. Ця особливість і дає можливість для широкого використання АО при визначенні співвідношення ДНК і РНК в клітині по співвідношенню інтенсивності люмінесценції.

Під час обробки фіксованих клітин люмінофором АО в певних умовах в інтервалі рН = 4-5 виникає двокольорове люмінесцентне забарвлення [5; 44]. Це

пояснюється комплексом мономерів з двохспіральною (в зеленій області спектра з максимумом 530 нм) і димерів з односпіральною (в червоній області спектра з максимумом 640 нм) нуклеїновими кислотами [40, 42] (рис. 1.23).

Крім двохспіральних нуклеїнових кислот комплекси з мономерами можуть утворювати і білки. Однак при рН фарбувального розчину, що дорівнює 4-4,6, внесок комплексів мономерів АО з білками в загальну інтенсивність люмінесценції клітини в довжині хвилі 530 нм дуже малий [43].

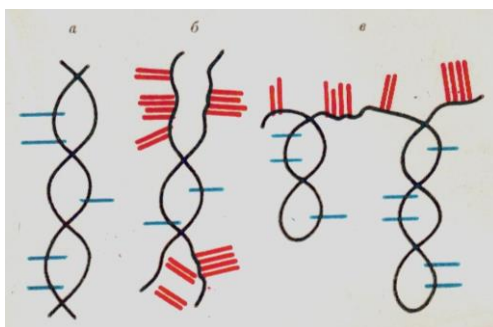


Рисунок 1.23 – Схема взаємодії акридинового оранжевого з нуклеїновими кислотами: а – двохланцюгова ДНК; б – частково денатурована двохланцюгова ДНК; в – РНК. [5]

У свою чергу, димери АО можуть утворювати комплекси не тільки з односпіральними НК але і з мукополісахаридами [39]. Однак для клітин, що не містять мукополісахаридів в цитоплазмі, але мабуть, доцільно при цьому переконатися у відсутності в досліджуваній клітці мукополісахаридів, наприклад, фарбуючи препарат АО при рН=2, коли комплекси димерів можуть утворюватися тільки з мукополісахаридами в разі їх присутності в клітині [40, 42].

Таким чином, застосування спектральної техніки дозволяє отримувати досить надійні і відтворювані результати вимірювання інтенсивності червоною і зеленою люмінесценції пофарбованого люмінофором АО для встановлення активності білок-синтезуючої системи клітини.

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Комерційно доступні реагенти та розчинники використовувалися без додаткового очищення. Як проявник використовували УФ-лампу. Елементний аналіз виконаний на PerkinElmer 2400. ЯМР ^1H спектри записані на спектрометрі «Bruker AM-400» (робоча частота 400.13 МГц), в ДМСО- d_6 ; зрушення виміряні щодо тетраметілілана.

Спектри флюоресценції та збудження Вимірювання флюоресценції сканували на спектрофлуориметрі Varian Cary Eclipse. Довжини хвиль збудження 370 нм і 390 нм (квантовий вихід визначався при порушенні 370 нм). В якості стандарту використовувався хінін бісульфат в 0.1 М сульфатній кислоті [50].

2.1 Визначення температури плавлення

Однією з найголовніших для характеристики чистоти речовини констант є температура плавлення. Найзручніше (та загалом прийнято) визначати температуру плавлення в капілярі [51].

Для приготування капілярів беруть широку (діаметром близько 10 мм) тонкостінну скляну трубку, ретельно миють її дистильованою водою та висушують. Висушену трубку нагрівають (неперервно обертаючи її) на полум'я паяльного пальника до розм'якшення, потім швидко виймають з полум'я та розтягують до отримання капіляра діаметром близько 1 мм.

Після охолодження отриману капілярну трубку нарізають гострим напильником на відрізки 40-50 мм. З одного, більш вузького кінця, ці капіляри

запаюють, для цього їх вводять направленим угору кінцем в полум'я пальника та, обертаючи, нагрівають протягом короткого відрізка часу.

Для заповнення капіляру його вводять відкритим кінцем в досліджувану речовину, при цьому невелику кількість останнього падає у капіляр. Речовину переміщують на дно капіляра наступним чином: тонку скляну трубку (довжиною 20-30 см) ставлять у вертикальному положенні на стіл, у верхній кінець трубки вносять капіляр та відпускають його. Падаючи, капіляр вдаряється об кришку столу, у результаті чого речовина спадає на дно капіляру та уплотнюється там. Такий прийом повторюють кілька разів. Для визначення температури плавлення речовина повинна заповнювати капіляр шаром заввишки в 2-3 мм.

Капіляр прикріплюють до термометра за допомогою відрізка гумової трубки шириною в 1мм. Стовпчик речовини повинен знаходитися на рівні середини кульки термометра; гумове кільце повинне охоплювати верхній кінець капіляра.

Термометр з капіляром за допомогою пробки з прорізом укріплюють в пробірці, що має розширення у верхній частині; цю пробірку вставляють в невелику колбу. В колбу наливають вазелінове масло. У разі необхідності вести нагрівання до температури вище 140° беруть концентровану сульфатну кислоту. Так як гаряча сульфатна кислота може заподіяти важкі опіки, то при роботі з нею треба бути обережними [51].

Прилад нагрівають на сітці з невеликим полум'ям пальника так, щоб температура підвищувалася повільно. Якщо температура плавлення речовини відома і визначення роблять з метою встановлення ступеня чистоти речовини, то спочатку швидко нагрівають прилад до температури, що лежить приблизно на 10° нижче очікуваної температури плавлення, потім полум'я пальника зменшують і далі піднімають температуру дуже повільно (не більш ніж на 1° за хвилину).

Температурою плавлення вважається та температура, при якій помічається перша поява рідкої фази. Якщо речовина чиста, то вона повністю плавиться в межах $0,5-1,0^{\circ}$.

Визначення температури плавлення проводять не тільки з метою встановлення чистоти відомого продукту, а й для ідентифікації речовини, тобто встановлення тотожності досліджуваного з'єднання з якою-небудь відомою (описаною в літературі) речовиною.

Часто на підставі уявлення про ймовірне протікання реакції, на підставі попереднього ознайомлення з властивостями і складом отриманої речовини, можна зробити припущення про його структуру. Перш ніж робити ґрунтовне дослідження для встановлення структури даної речовини, слід перевірити, чи не була раніше описана в хімічній літературі речовина з аналогічними властивостями. Тотожність досліджуваної речовини з описаним встановлюють на підставі схожості характерних реакцій, збіги складу і фізичних констант, з яких температура плавлення має найбільше значення, так як її величина сильно змінюється навіть при незначних відмінностях в будові речовин.

Якщо обидві речовини ідентичні, то їх суміш буде плавитися при тій же температурі, що і кожна з речовин окремо. Якщо ж речовини різні, то їх суміш, як правило, плавиться при більш низькій температурі, ніж чисті речовини [51].

2.2 Елементний аналіз

Роботи Дасволла і Брандта, Сандберга і Мареша [52], Уоліша [53] дали початок створенню основних типів автоматичних приладів для елементного аналізу. Проте запропоновані методи ще не забезпечували визначення окремих елементів з точністю класичних методів, прийнятою в мікроаналізі і рівній $\pm 0,2-0,3$, необхідною для надійної ідентифікації нових органічних речовин.

Успіху в розвитку автоматичних методів елементного аналізу сприяло створення загальнодоступних мікро- і ультрамікровагів, робота яких заснована на електромагнітному принципі, а також поява сучасних електронних пристроїв. Це у багато разів прискорило зважування, дозволив працювати з навішуваннями менше 1 мг, дало можливість значно удосконалити обробку сигналу детектора, а також максимально автоматизувати аналіз.

Принцип роботи CHNS-аналізаторів полягає в наступному. Проба органічної сполуки піддається, розкладання починається в місці розташування проби і закінчується в зоні доокислення. Газоподібні продукти окислення, що утворилися, потім проходять через відновну зону, де поглинається надлишок кисню, введений в реактор або виділений реагентами, і відбувається відновлення оксидів азоту до елементного азоту.

Отримана суміш газів (CO_2 , H_2O , N_2 , SO_2) далі проходить етап розділення, з використанням, головним чином, різних варіантів газової хроматографії, або селективної адсорбції або поєднання обох методів. В деяких випадках між реактором і розділовою частиною поміщають камеру розбавлення. Камера впливає на роботу реактора (можливість вибору різних умов реакції), розділової частини і детектора.

Найчастіше кінцеві продукти окислення вимірюють за допомогою детектора по теплопровідності – катарометру. У останніх моделях приладів передбачено застосування сучасної обчислювальної техніки (мікропроцесор, комп'ютер). Прилади щодня калібрують по навішуваннях стандартних речовин, дані аналізу яких використовують для розрахунку калібрувальних коефіцієнтів [54].

2.3 Ядерний магнітний резонанс

У останні роки одним із найбільше поширених методів дослідження органічних сполук став метод ядерного магнітного резонансу (ЯМР) [55]. Особливо широко застосовується ядерний магнітний резонанс на протонах – протонний магнітний резонанс (ПМР), принцип якого полягає в тому, що ядра деяких атомів, у тому числі і водню (протон), мають магнітний момент. Якщо протон знаходиться в постійному магнітному полі, то його магнітний момент може бути орієнтований у напрямку магнітного поля або проти нього. Оскільки орієнтація в напрямку цього поля більш вигідна, перемінити його на протилежне можна тільки при поданні протону додаткової енергії (ΔE). Якщо зразок речовини опромінювати радіохвилями з перемінною частотою, то можна підібрати таке значення ν , при якому квант енергії $h\nu$ для конкретного протону буде дорівнює E , тобто при цьому можливо зміна орієнтації магнітного моменту (спин $-1/2$ змінюється на $+1/2$). У цей час буде спостерігатися поглинання випромінювання речовиною, що відзначається появою відповідного піку поглинання. Змінюючи частоту в області всього спектра, можна одержати сигнали всіх протонів, що утримуються в молекулі зразка. Сигнали протонів, що належать до різноманітних груп (CH_3 , CH_2 , CH та ін.), знаходяться один від одного на визначеній відстані, що називається хімічним зсувом. Цей зсув вимірюється по відношенню до сигналу еталону—тетраметилсилану $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$ (ТМС) і виражається у відносних одиницях – мільйонних долях магнітного поля або резонансної частоти (м.д.) [55].

На рис. 2.1 приведено ПМР-спектр етилового спирту, що містить три різноманітних протони.

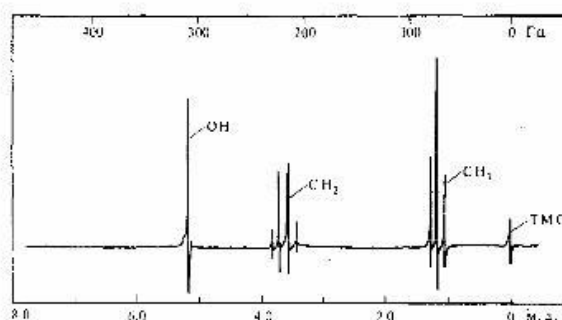


Рисунок 2.1 – ПМР-спектр етилового спирту, що містить три різноманітних протони

Кількість сигналів у спектрі ПМР показує, скільки типів протонів утримується в молекулі речовини, а хімічний зсув (положення сигналів) визначає вид протонів (аліфатичні, ароматні, первинні, повторні і т.д.). Це пов'язано з тим, що хімічний зсув сигналу протона визначається його електронним оточенням [56].

2.4 ІЧ-спектроскопія

Метод аналізу заснований на фіксуванні інфрачервоних спектрів поглинання речовини. Поглинання речовиною в області інфрачервоного випромінювання відбуваються за рахунок коливань атомів в молекулах. Коливання атомів поділяються на валентні (коли в ході коливання змінюються відстані між атомами) і деформаційні (коли в ході коливання змінюються кути між зв'язками).

ІЧ-спектри досліджуваних сполук було отримано з використанням ІЧ-спектрометра з Фур'є перетворювачем АBB Bomem MB Series з розширенням та усередненням спектру 4 cm^{-1} , діапазоном спектру від 450 до 5000 cm^{-1} . Спочатку вимірювали фон броміду калію. Для цього 50 мг KBr

розтирали у агатовій ступці, містили у матрицю і піддавали таблетуванню під тиском, створюючи вакуум протягом 5 хвилин та протягом наступних 5 хвилин додатково використовуючи гідравлічний прес для створення необхідного тиску. Для отриманої прозорої таблетки броміду калію вимірювали ІЧ-спектр, який є фоном. Наступним кроком проводили вимірювання ІЧ-спектрів досліджуваних речовин. Для цього наважку у 2,5 мг досліджуваної сполуки розтирали у агатовій ступці з 50 мг KBr до повної гомогенності суміші, піддавали таблетуванню і вимірювали показання приладу аналогічним чином. Отримані дані від приладу поступали до ПК та оброблялися відповідним програмним забезпеченням [56].

2.5 Люмінесцентний аналіз

Люмінесценція – властивість речовини випромінювати світло під впливом збуджуючих факторів, а саме ультрафіолетових променів. Така, властивість речовин характеризується тривалістю її збудженого стану, яка для різних речовин має певну середню величину [46].

Люмінесцентний аналіз включає спостереження за яскравістю та кольором люмінесценції, що слугують люмінесцентними характеристиками, за допомогою яких можна встановити вид та сорт харчових продуктів, виявити початкову ступінь псування, наявність домішок та забруднень у аналізованій продукції.

Люмінесцентний метод дослідження відрізняється високою чутливістю та швидкістю, і знаходить все більш широке використання в практиці ветеринарно-санітарної експертизи санітарно-епідеміологічного нагляду. Він дозволяє виявити незначну кількість люмінесцентної речовини, що у багато разів перевищує чутливість хімічних і абсорбційних методів. Крім того, люмінесцентний аналіз повністю відповідає вимогам експрес-методу. Цей

метод можливо використовувати для виявлення початкових ознак псування, якості, ідентифікації та фальсифікації продукції.

Люмінесцентний метод аналізу не потребує технічних, теплових і тривалих затрат та не впливає при дослідженні на органолептичні властивості аналізованої продукції. Метод володіє винятковою чутливістю. Він дає можливість оперувати з вкрай малими концентраціями до 10^{-10} г люмінофора на 1 г речовини і з ще меншими (до 10^{-12}) кількостями досліджуваної речовини.

2.6 Методи фарбування та оцінювання клітин

Мазки крові для люмінесцентного аналізу готують з суцільної крові або фарбуванням мікроорганізмів.

Висушені на повітрі препарати фіксують у суміші ацетону та абсолютного етилового спирту в пропорції 1:1 20 хвилин, проводять через батарею розведення етилового спирту знижуючої концентрації: 96%-15 хв.; 60%-10 хв.; 30%-5 хв.. На цьому етапі препарати після висихання можна берегти декілька місяців до використання. Подальша обробка препаратів полягає в промиванні дистильованою водою, інкубації в ЦФБ (рН 6,0) - 4 хв., флуорохромуванні у концентрації 1:20000 на такому ж буфері протягом 10 хв., двічі відмивають від непрореагувавшого флуорохрому у буфері по 2 хв. Для запобігання фотодеструкції наносять 2-3 краплі протектора. Далі клітини покривають покривним склом, окантовують від висихання 30% розчином полістиролу в ксилолі, сушать у термостаті при 37°C 20-30 хв [57].

Інтенсивність флуоресценції в спектрі збудження 436 нм оцінюють в умовних одиницях за допомогою люмінесцентного мікроскопу з приставкою цифрового лічильника або використовують мікроспектрофлуориметри.

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

3.1 Реакція гідразидів 2-(2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)ацетатної кислоти з карбон дисульфідом

Для збільшення функціоналізації 1,3,4-оксадіазолу в 2 положенні був проведений ресинтез нових гібридів 1,3,4-оксадіазол-2(3H)-тіонів з акридин-9(10H)-оновим фрагментом. В якості замісників в 2-положення 1,3,4-оксадіазолу можуть бути введені різні ароматичні, гетероциклічні або алкільні групи. Це засвідчує, що тема синтетичного дизайну таких сполук до кінця не вичерпана і є актуальною на даний час.

2-(2-R-9-Оксоакридин-10(9H)-іл)ацетогідразиди (**3.1**, **3.2**) були використані нами для отримання калій 5-((9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-тіолатів (**3.3**, **3.4**) під дією карбон дисульфїду з калій гідроксидом в середовищі етанолу (рис. 3.1). Подальше підкислення (**3.3**, **3.4**) дало змогу отримати відповідні тіони (**3.5**, **3.6**).

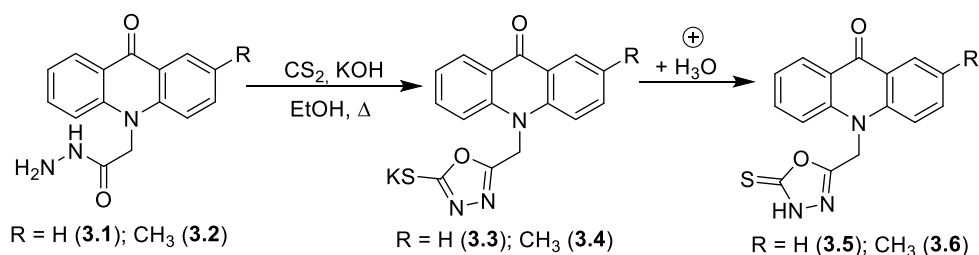


Рисунок 3.1 – Синтез калій 5-((9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-тіолатів

На користь реакції циклізації і, отже, утворення 1,3,4-оксадіазольного гетероциклу свідчить комплекс аналітичних і спектральних методів. Зокрема, в ^{13}C ЯМР-спектрах сполук (**3.5**, **3.6**) містяться сигнали атома С-17 і С-22 при 159,93-159,96, 176,92-177,1 м.ч., що узгоджується з літературними даними [58]

(рис. 3.2). Також на спектрі присутні сигнали ароматичного ядра акридин-9(10H)-она і метиленового зв'язку.

В ЯМР ^1H -спектрі сигнали протонів, що входять до складу метиленової групи, реєструється у вигляді синглету з хімічним зсувом 5,9 м.ч. Також ми можемо побачити зникнення характерного уширеного синглету (-NH-) в 9,6 м.ч. і синглет в 4,32 м.ч., що характерно для сполук (3.5, 3.6).

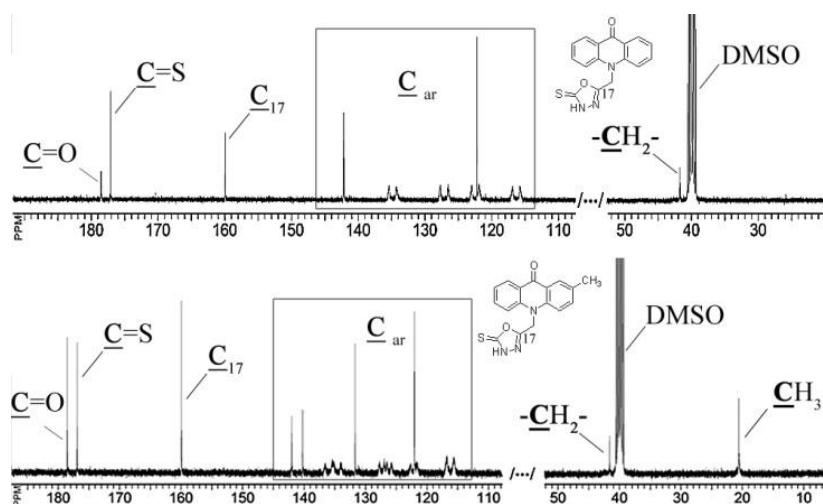


Рисунок 3.2 – Спектри ЯМР ^{13}C сполук (3.5, 3.6) в ДМСО- d_6

3.2 Синтез 3-((5-((2-R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот

Для подальшої функціоналізації сполук було доцільно отримати вільні карбонові кислоти. Також відомо, що наявність алкільних замісників при атомі Сульфуру в 1,3,4-оксадіазол-2(3H)-тіонах підвищує їх біологічну активність.

Кислоти (3.7, 3.8) були отримані шляхом взаємодії, попередньо синтезованих, калієвих солей сполук (3.3, 3.4) з 3-хлоропропіоновою кислотою в середовищі полярного розчинника - етанолу (рис. 3.3).

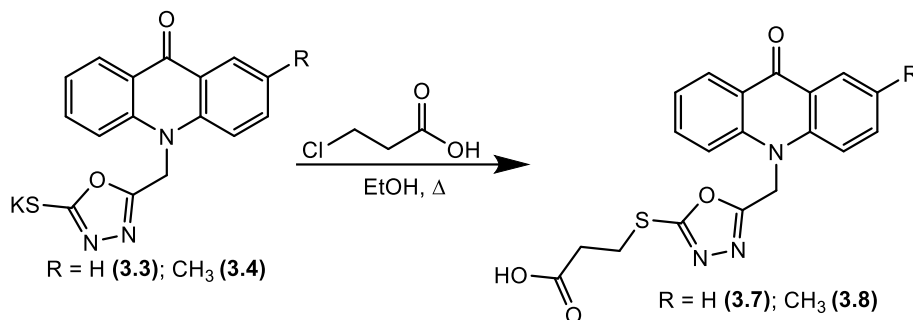


Рисунок 3.3 – Синтез 3-((5-((2-R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот

Речовини є індивідуальні сполуки білого (**3.7, 3.8**), не розчинні у воді, мало розчинні в органічних розчинниках. Будова сполук доведена за допомогою спектральних методів аналізу, а їх індивідуальність – хроматографічно.

Спектри ЯМР ^1H сполук (3.7, 3.8) характеризуються сигналом -S-CH₂CH₂CO-групи проявляється у вигляді двох триплетів при 2,71 та 3,31 м.ч. Наявність даних піків підтверджує проходження реакції алкілування саме по атому Сульфуру.

3.3 Синтез солей 3-((5-((2-R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот

Однією з важливих проблем медичної та біоорганічної хімії є пошук водорозчинних сполук. Розчинність багато в чому визначає ефективність біологічно активної субстанції та її біоеквівалентність.

Згідно літературних джерел [59] відомо, що похідні акридин-9(10H)-ону володіють вкрай низькою розчинністю, та навіть розчинні сполуки не стабільні у вигляді водних розчинів або таблеток (наприклад «Камедон®»). Відповідно, даний факт значно обмежує їх застосування у медичній практиці. З цієї точки

зору, отримання водорозчинних солей зазначених сполук повинно призвести до підвищення їх біологічної доступності, що дозволить значно скоротити їх терапевтичну концентрацію.

Натрій та калій 3-((5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропіоати (**3.9-3.10**) синтезовані взаємодією відповідних кислот (**3.7-3.8**) з натрій гідроксидом в водному середовищі з подальшим випаровуванням розчинника [60] (рис.3.4).

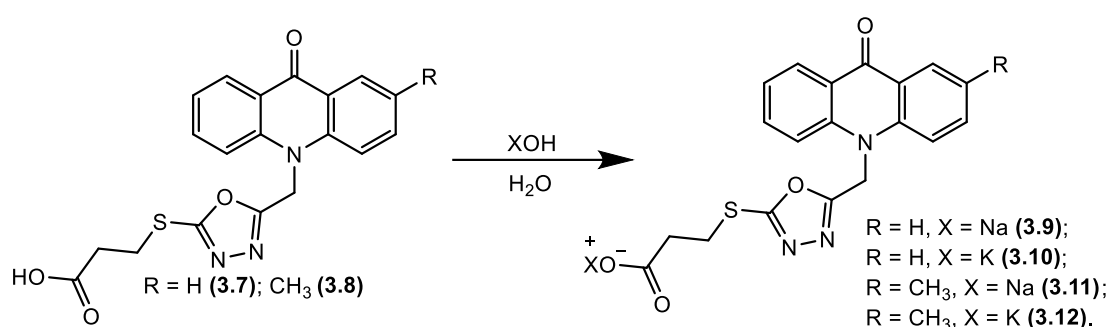


Рисунок 3.4 – Синтез солей 3-((5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот

Отримані сполуки – білі або жовті кристалічні речовини добре розчинні у воді та органічних розчинниках.

При аналізі спектрів сполук (**3.9, 3.10**) наявні двопротонні дуплети або триплети для $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ та $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CO}$ -груп (рис. 3.5). Варто відзначити особливості : наявність атому Сульфуру в сполуках зміщує вищезазначені протони в більш слабке поле, що свідчить про більший акцепторний вплив даного атому. Характерною для сполук, що містять метильний радикал в акридин9(10H)-оні у другому положенні, є наявність на спектрах синглету при 2,43 м.ч.

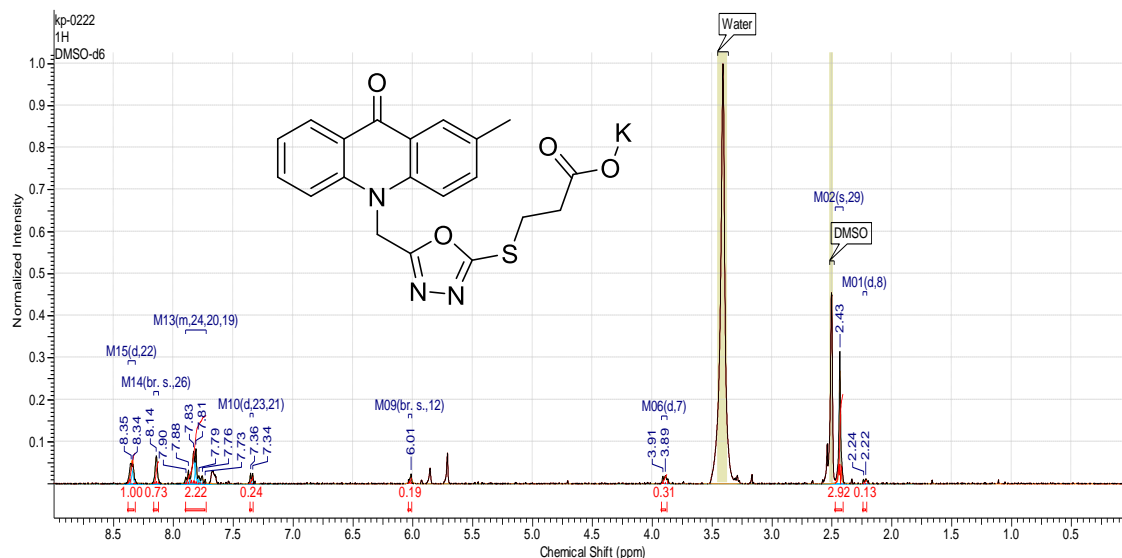


Рисунок 3.5 – Фрагмент ^1H ЯМР-спектру калій 3-((5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноату (**3.12**)

3.4 Синтез естерів 3-((5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот

Синтез нових естерів, які можуть бути перспективними не лише як субстанції біологічно активних сполук, але і як об'єкти для подальших хімічних перетворень (синтез амідів, гідразидів, тощо) та вивчення їх фізико-хімічних властивостей, залишається актуальним, має теоретичний та практичний інтерес.

Естери 3-((5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот (**3.13**, **3.14**) отримані двома методами. За першим методом проводять естерифікацію кислот (**3.7**, **3.8**) одноатомними спиртами у присутності каталітичної кількості концентрованої сульфатної кислоти.

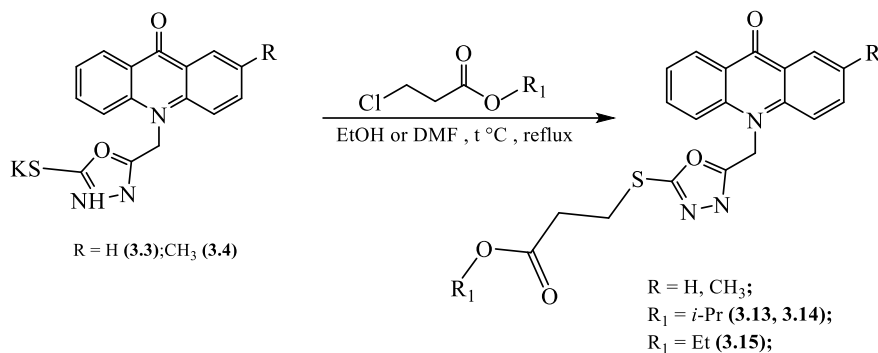


Рисунок 3.6 – Синтез естерів 3-((5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот

Вихідні тіоли (**3.3**, **3.4**) алкілували метиловим естером 3-хлоропропіонової кислоти і спостерігали найбільш високі виходи сполук у порівнянні з іншими методами (рис.3.6).

Використовуючи комплексний підхід до фізико-хімічного аналізу синтезованих сполук, встановлена будова отриманих речовин. Результат елементного та спектрального аналізу підтверджує молекулярну структуру естерів (**3.13**, **3.14**, **3.15**). ^1H ЯМР-спектри отриманих речовин однозначно свідчать про їх відповідність вказаним формулам.

3.5 Оптичні властивості 3-((5-((2-R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот та їх похідних

Виникнення новітніх технологій та галузей практичного застосування вимагає створення барвників і люмінофорів з поліпшеними характеристиками і специфічними властивостями [61].

Акридин-9(10H)-он дуже фотостабільний, має високу абсорбцію при 405 нм і випромінює при 550 нм, тривалість люмінесценції – 14,9 нс, квантовий вихід = 0,8 у воді [6]. Варто відзначити дуже хороші дані про люмінесценцію

акридин-9(10H)-ону, але через слабку розчинність у воді, важко скласти стандарти точних концентрацій, також він не може бути обраний як еталонний стандарт при люмінесцентному аналізі [7]. Крім того, багато похідних, які містять акридин-9(10H)-он, демонструють синьо-фіолетову флуоресценцію ($\lambda_{\text{погл.}} = 384 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{фл.}} = 441 \text{ нм}$), що є вигідним для візуалізації їх активності в клітинних культурах або у зразках тканин.

Спектральні дослідження розбавлених розчинів синтезованих органічних сполук проводили в спектрально чистих розчинниках – вода та метанол. Для сполук були зафіксовані максимуми в спектрах абсорбції ($\lambda_{\text{погл.}}$) і люмінесценції ($\lambda_{\text{фл.}}$), визначений квантовий вихід (Φ), обрахований зсув Стокса (табл. 3.1).

Таблиця 3.1 Спектральні дослідження 5-((2-R-9-оксоакридин-10(9H)іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)карбонових кислот та їх похідних

Сполука	Середовище	$\lambda_{\text{погл.}}$, нм	$\lambda_{\text{фл.}}$, нм	Зсув Стокса, нм	Φ , %
3.5	Вода	384, 399	420, 440	36, 41	-
3.6	Вода	392, 406	435, 448	43, 42	-
3.9	Вода	398	425,438	40	-
	Метанол	394	420	26	38
3.11	Вода	392, 405	433, 448	41, 43	-
	Метанол	400	425	25	36
3.13	Метанол	392	414	22	78
3.15	Метанол	398	423	25	55
3.14	Метанол	396	417	21	49

Для досліджуваних сполук виявлено багатосмугову флуоресценцію у сильно полярному розчиннику – воді ($\epsilon = 78,3$) та мають два максимуми флуоресценції: середньохвильові при $\sim 380\text{-}450 \text{ нм}$ (табл. 3.1, рис 3.7).

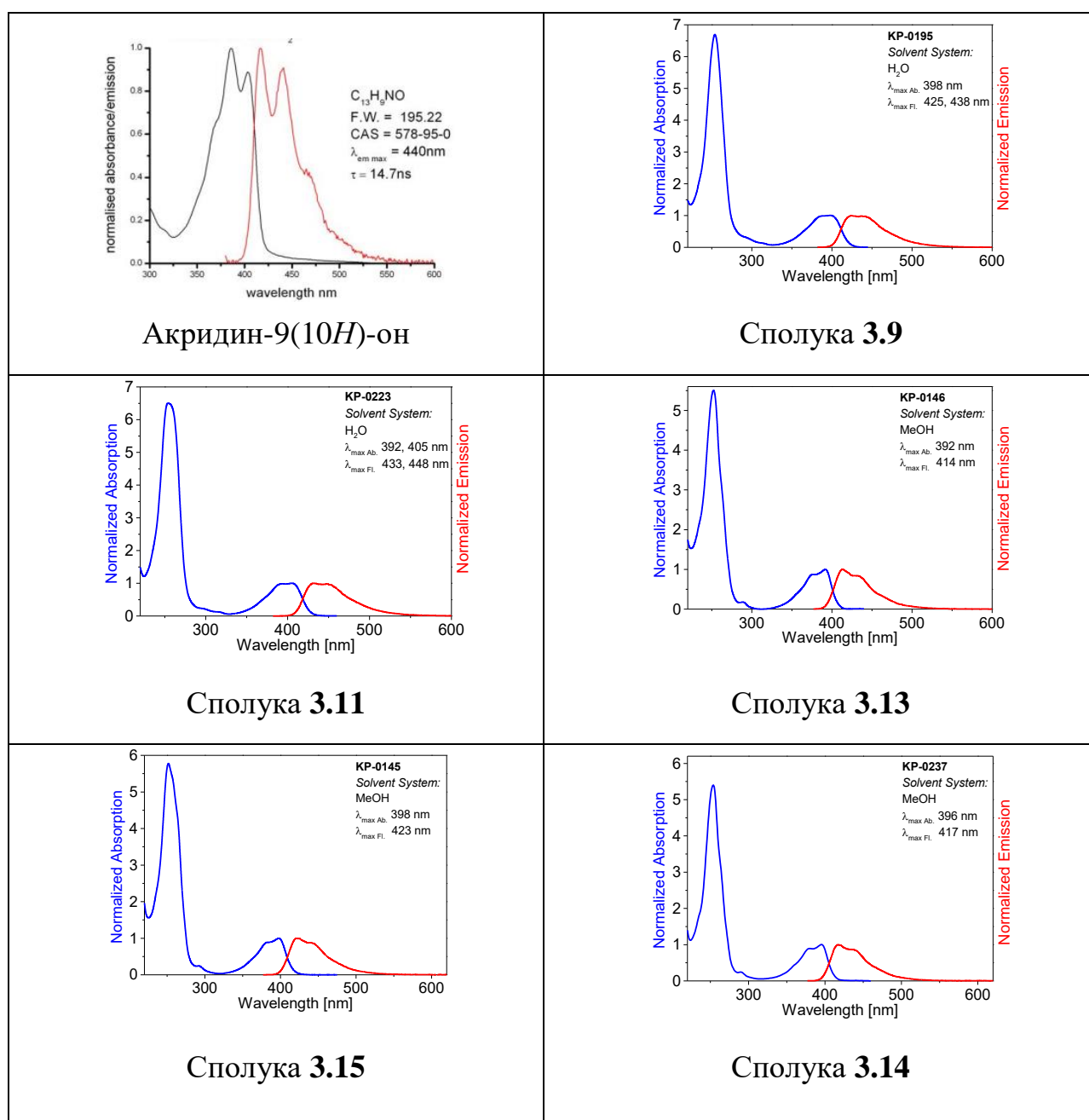


Рисунок 3.7 – Спектри флуорисценції синтезованих сполук

Виходячи з законів флуоресценції відомо, що для однієї індивідуальної сполуки в спектрі флуоресценції повинен бути один максимум, тому виникає питання про природу цих максимумів. Максимум з найменшим Стоксовим зсувом, очевидно, основний максимум флуоресценції з S_1 стану. Відомо, що додаткові максимуми флуоресценції можуть виникати внаслідок агрегації та поєднання флуорофорів, наприклад у вигляді гетероциклів. У всіх випадках в

УФ-спектрах випромінювання цих молекул спостерігається одна смуга поглинання. Ймовірно, це пов'язано з більшою структурною гнучкістю молекули з двома акцепторними циклами. Особливістю спектрів флуоресценції також є зміщення довжини хвилі в більш короткохвильову по відношенню до сполуки-референт – акридин-9(10*H*)-она (рис 3.7). Так, зсув відбувається на 15 - 20 нм за рахунок наявності 1,3,4-оксадіазолу та його замісників у другому положенні. Можна припустити, що відповідні синтезовані сполуки будуть мати також велике значення життя флуоресценції.

Варто відзначити, що при переході до менш полярного розчинника, а саме до метанолу ($\epsilon = 32,63$) для сполук **3.9**, **3.11** максимум флуоресценції знаходяться майже при однаковій хвилі, але присутній тільки один максимум. Відповідно у воді проявляється більш тонка коливальна спектральна характеристика молекули, проте особливо сильного впливу розчинника на характеристики флуоресценції не спостерігається. Для більшості досліджених сполук спостерігаються помірні значення зрушень Стокса (5-43 нм), які вказують на те, що геометричні зміни, що відбуваються при оптичному збудженні, не настільки великі. Їх домінуючою причиною, мабуть, є зміна порядку зв'язку в гетероциклічному кільці акридин-9(10*H*)-она та особливість атома Сульфура (близькість і доступність 3d-рівнів сприяє безвипромінювальному переходу збудженого електрона), характерна для сполук подібного типу. В усіх випадках довжина хвилі люмінесценції є більшою, ніж довжина хвиль, що поглинаються та підтверджують закон Стокса.

Квантові виходи флуоресценції (ϕ) досліджених сполук істотно залежать від акцепторного гетероциклу – 1,3,4-оксадіазолу та його замісників у другому положенні. Виходячи з даних табл. 3.7, у сполуки **3.13** спостерігається найбільший квантовий вихід, а у сполуки **3.11** – найменший. Виходячи з будови синтезованих сполук, збільшення квантового виходу спостерігається при переході від водорозчинних солей до складних естерів, при чому у більш розгалуженого – ізопропільного залишку. Збільшення карбонового ланцюга

приєднаного до атому Сульфура зменшує квантовий вихід флуоресценції, що пов'язано зі зменшенням прояву акцепторного впливу 1,3,4-оксадіазолу. Зазначалося, що такий вплив алкільних груп може бути пов'язаний з їх участю в стабілізації утворюваного в результаті порушення фотоексітона.

Підводячи підсумок цієї частини роботи, можна зробити висновок, що кількість електроноакцепторних центрів і природа замісників у другому положенні 1,3,4-оксадіазольного фрагменту дозволяє збільшити квантовий вихід флуоресценції. На основі вищенаведеного, нами запропоновані сполуки **3.9**, **3.13**, **3.15**, як нові флуоресцентні барвники, зонди і мітчики, що придатні для застосувань, заснованих на аналізі та кількісному визначенні протеїнів та нуклеїнових кислот ДНК та РНК, в імунології – для спостереження взаємодії антигенів з антитілами, в гібридизаційному аналізі, заснованому на взаємодії комплементарних пар олігонуклеотидів, для одержання біологічних зображень методом флуоресцентної мікроскопії та при вирішенні інших медико-біологічних завдань.

3.6 Оцінка флуоресценції клітин пофарбованих ресинтезованим люмінофором

Сучасні органічні флуорохроми повинні володіти досить ефективною інтеркаляцією з нуклеїновими кислотами та протеїнами, низькою токсичністю та здатністю до поєднання декількох люмінофорів одночасно у одній системі. Дослідження стану білок-синтетичної системи (БСС) клітин імунної системи на сьогодні залишається актуальним питанням для багатьох науковців. За активністю БСС клітин можна встановити стан імунної системи людини та спрогнозувати патологічні розлади в організмі. Оскільки НК не володіють світлочутливістю в видимій області спектра (максимум поглинання основ ДНК знаходиться в районі 260 нм), тому використання нових та комбінованих

люмінесцентних зондів підвищить можливість з'ясувати їх склад та спектральні властивості [62]. Тому пошук нових флуоресцентних молекул є актуальною проблемою, привабливою увагою спеціалістів з різних обласних біологічної та медичної хімії, біофізиків, органічного синтезу .

Ізопропіл 3-((5-((9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноат (**3.13**), який має високий квантовий вихід ($\phi = 78$) та може бути запропонований як флуоресцентний барвник для кількісного та якісного аналізу НК.

При фарбуванні мікроорганізмів штаму *Bacillus subtilis* спостерігали яскраву блакитну люмінесценцію (рис.3.8). Це свідчить про те, що барвник дифундує чере клітину стінку бактерій. ДНК бактеріальної клітини та пов'язані з нею системи репарації, транскрипції та трансляції не оточені ядерною оболонкою і тому проникнення флуорохрому полегшене. Але успішна інтеркаляція в ділянки азотистих основ ДНК відмічається і в дослідженнях вчених [63].

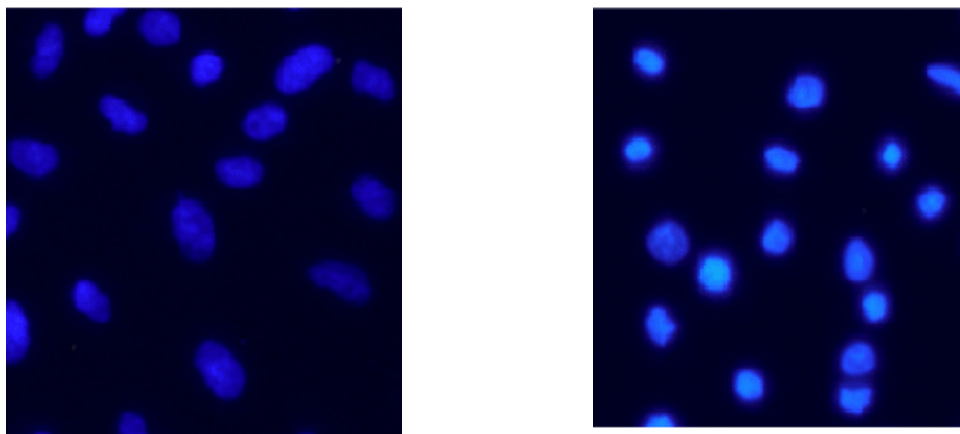


Рисунок 3.8 – Флуоресценція мікроорганізмів штаму пофарбованих ізопропіл 3-((5-((9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноат

3.7 Опис експериментів

2-(2-R-9-Оксоакридин-10(9H)-іл)ацетогідразиди 3.1, 3.2 ресентизовано за методикою описаною в літературі [64].

Загальна методика отримання калій 5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-тіолатів (3.3, 3.4). До 0,01 моль гідразиду (**3.1, 3.2**) і 2,41 мл (0,04 моль) карбон дисульфїду додаємо 0,56 г (0,01 моль) калій гідроксиду в 30 мл етанолу. Отриману суспензію нагріваємо впродовж 24 годин на магнітній мішалці зі зворотнім холодильником до темно-помаранчевого забарвлення. Залишаємо для кристалізації на 10 годин і отриманні кристали сушимо на повітрі.

Калій 5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-тіолат (3.3). Вихід 3,13г (90 %), порошок жовтого кольору, т. пл. 238-240 °С (MeOH). ІЧ-спектр, ν , см-1: 1352, 1590, 3211. Мас-спектр, m/z (Іотн, %): 348 [M+H]⁺ (100). Знайдено, %: С 55,34; Н 2,92; N 12,03; S 9,26. C₁₆H₁₀KN₃O₂S. Розраховано, %: С 55,31; Н 2,90; N 12,09; S 9,23.

Калій 5-((2-метил-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-тіолат (3.4). Вихід 3,32 г (92 %), порошок жовтого кольору, т. пл. 248-250 °С (MeOH). ІЧ-спектр, ν , см-1: 751.29, 1180.98, 1264, 1408, 1494., 1555, 3212. Масспектр, m/z (Іотн, %): 362 [M+H]⁺ (100). Знайдено, %: С 56,46; Н 3,41; N 11,61; S 8,89. C₁₇H₁₂KN₃O₂S. Розраховано, %: С 56,42; Н 3,44; N 11,63; S 8,87.

Загальна методика отримання **10-((5-тіоксо-4,5-дигідро-1,3,4оксадіазол-2-іл)метил)-2-R-акридин-9(10H)-онів (3.5, 3.6).** До фільтрату, який залишився з вищеописаного синтезу сполук (**3.3, 3.4**) при постійному перемішуванні додають 20 мл 10%-ого розчину крижаної оцтової кислоти. Світло-жовтий осад відфільтровують, промивають крижаною оцтовою кислотою, спиртом і водою, сушать на повітрі.

Загальна методика отримання 3-(5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот (**3.7, 3.8**).

До розчину 0,01 моль відповідного тіолу (**3.3, 3.4**) в 30 мл етанолу додають 0,945 г (0,01 моль) моноклороцтової кислоти. Реакційну суміш кип'яють протягом 3 год., охолоджують, осад відфільтровують, промивають водою, сушать.

Переосаджують з водного розчину натрій гідрокарбонату.

3-((5-((9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанова кислота (3.7). Вихід 58 %, білий порошок, т. пл. 202-204°C. Мас-спектр, m/z (Іотн, %): 382 $[M+H]^+$ (100). Знайдено, %: С 59,81; Н 4,00; N 11,02; S 8,45. $C_{19}H_{15}N_3O_4S$. Розраховано, %: С 59,83; Н 3,96; N 11,02; S 8,41.

3-((5-((2-метил-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанова кислота (3.8). Вихід 62 %, білий порошок, т. пл. 224-226°C (EtOH). Мас-спектр, m/z (Іотн, %): 396 $[M+H]^+$ (100). Знайдено, %: С 60,81; Н 4,43; N 10,56; S 8,07. $C_{20}H_{17}N_3O_4S$. Розраховано, %: С 60,75; Н 4,33; N 10,63; S 8,11

Загальна методика отримання солей 3-((5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)пропанових кислот. Суміш 0,01 моль відповідної кислоти 3.7, 3.8 і 0,01 моль калій або натрій гідроксиду в 30 мл метанолу випаровують на водяній бані. Сухий залишок перекристалізують із метанолу. В усіх випадках кількісний вихід.

Натрій 3-((5-((9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноат (3.9). Жовтий порошок, т. пл. 228-230°C (MeOH). Мас-спектр, m/z (Іотн, %): 404 $[M+H]^+$ (100). Знайдено, %: С 56,85; Н 3,57; N 10,40; S 7,73. $C_{19}H_{14}N_3NaO_4S$. Розраховано, %: С 56,57; Н 3,50; N 10,42; S 7,95.

Калій 2-((5-((9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноат (3.10). Жовтий порошок, т. пл. 236-238°C (MeOH). Мас-спектр, m/z (Іотн, %): 420 $[M+H]^+$ (100). Знайдено, %: С 54,50; Н 3,47; N 10,14; S 7,73. $C_{19}H_{14}KN_3O_4S$. Розраховано, %: С 54,40; Н 3,36; N 10,02; S 7,64.

Натрій 2-((5-((2-метил-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноат (3.11). Жовтий порошок, т. пл. 252-254°C

(MeOH). Мас-спектр, m/z (Іотн, %): 418 $[M+H]^+$ (100). Знайдено, %: С 57,61; Н 3,96; N 10,02; S 7,71. $C_{19}H_{15}N_3NaO_4S$. Розраховано, %: С 57,55; Н 3,86; N 10,07; S 7,68.

Калій 3-((5-((2-метил-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноат (3.12). Жовтий порошок, т. пл. 260-262°C (MeOH). Мас-спектр, m/z (Іотн, %): 434 $[M+H]^+$ (100). Знайдено, %: С 55,43; Н 3,86; N 9,62; S 7,41. $C_{20}H_{16}KN_3O_4S$. Розраховано, %: С 55,41; Н 3,72; N 9,69; S 7,40.

Загальна методика отримання естерів 3-((5-((2R-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот (3.13-3.14).

Метод А. Суміш 0,01 моль відповідної кислоти (3.9, 3.10) в 25 мл спирту MeOH, 0,5 мл концентрованої сульфатної кислоти кип'ячать протягом 12 год, охолоджують, розчинник випарюють, суміш промивають 1,5 мл розчину насиченого водного $NaHCO_3$. Отриманий осад відфільтровують, промивають на фільтрі 50 мл дистильованої води.

Метод Б. До розчину 0,01 моль тіолу (3.3, 3.4) в 30 мл етанолу додають 0,01 моль відповідного естеру монохлороцтової кислоти. Реакційну суміш кип'ячать протягом 3 год, охолоджують, осад відфільтровують, розчинник випаровують, сухий залишок кристалізують з метанолу.

Сполуки, отримані за методом А-Б не дають депресії температури плавлення.

Ізопропіл 3-((5-((9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноат (3.13). Вихід 78 %, жовтий порошок, т. пл. 250 °С (MeOH-H₂O, 1:1). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д (J, Гц): 3,54 (3H,с,CH₃); 4,18 (2H,с, SCH₂CO); 6,00 (2H, с, CH₂); 7,34 (2H, уш.т, J = 6,0, H_{аром}); 7,76-7,84 (4H, м, H_{аром}). Мас-спектр, m/z (Іотн, %): 382 $[M+H]^+$ (100). Знайдено, %: С 59,80; Н 3,99; N 11,02; S 8,41. $C_{19}H_{15}N_3O_2S$. Розраховано, %: С 59,83; Н 3,96; N 11,00; S 8,45.

Ізопропіл 3-((5-((2-метил-9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноат (3.14). Вихід 74 %, жовтий порошок, т. пл. 236

°C (MeOH-H₂O, 1:1). Спектр ЯМР ¹H, δ, м.д (J, Гц): 2,37 (3H,с,CH₃); 3,67 (3H, с, OCH₃); 4.17 (2H, с, SCH₂CO); 5.97 (2H, с, CH₂); 7.32 (2H, уш.т, J = 6.8, Наром); 7,62 (1H, уш.т, J = 8.8, Наром); 7,72-7,82 (3H, м, Наром); 8,11 (1H, с, Наром); 8,32(1H, уш.т, J = 8.1, Наром). Мас-спектр, m/z (I_{отн}, %): 396 [M+H]⁺ (100). Знайдено, %: С 60,76; Н 4,35; N 10,62; S 8,09. C₂₀H₁₇N₃O₄S. Розраховано, %: С 60,75; Н 4,33; N 10,63; S 8,11.

Етил 3-((5-((9-оксоакридин-10(9H)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноат (3.15). Вихід 69 %, жовтий порошок, т. пл. 231 °C (MeOH–H₂O, 1:1). Спектр ЯМР ¹H, δ, м. д. (J, Гц): 1,07 (3H, т, J = 7,0, OCH₂CH₃); 2,53 (2H, т, J = 7,50, SCH₂CH₂CO); 2,94 (2H, т, J = 7,50, SCH₂CH₂CO); 4,01 (2H, к, J = 7,0, OCH₂CH₃); 6,02 (2H, с, CH₂); 7,31 (2H, уш. т, J = 6,2, Наром); 7,78-7,86 м (4H); 8,34 (2H, д, J = 7,6, Наром). Мас-спектр, m/z (I_{отн}, %): 410 [M+H]⁺ (100). Знайдено, %: С 61,66; Н 4,73; N 10,29; S 7,87. C₂₁H₁₉N₃O₄S. Розраховано, % : С 61,60; Н 4,68; N 10,26; S 7,83.

4 ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

Тема моєї роботи «Флуоресцентні властивості похідних акридину». Об'єктом мого дослідження в даній роботі були ресинтезовані сполуки на основі 10-((1,3,4-оксодіазол-2іл)метил)акридин-9(10H)-онів. Перед початком роботи зі мною був проведений інструктаж з охорони праці за інструкцією №156 та пожежної безпеки №62 моїм науковим керівником. Оскільки кваліфікаційна робота пов'язана з перебуванням у лабораторії, то я обов'язана була дотримуватися правил техніки безпеки. Працювала у лабораторії у зручному одязі, який не стримував рухів.

У лабораторії я ніколи не працювала самотньо, так як наявність другої особи необхідна для надання допомоги при нещасних випадках. Лабораторія – це окреме приміщення в ньому формується свій мікроклімат, який впливає на здоров'я людини [65].

Згідно з діючими в нашій країні нормативними документами [65] ГОСТ 12.1.005–88 "Загальні санітарно–гігієнічні вимоги до повітря робочої зони":

- температура повітря повинна складати 22-24°C;
- швидкість його руху – 0,1 м/с;
- відносна вологість повітря – 40-60%.

В теплі пори року:

- температура повітря дорівнює 23-25 °С;
- швидкість його руху – 0,1-0,2 м/с;
- вологість – 40-60%.

Температура повітря була оптимальною (18°-24°C). Відносна вологість повітря була така як в навколишньому середовищі. При підвищенні відносної вологості існує ймовірність порушення тепловіддачі і зниження працездатності людини. Атмосферний тиск в лабораторії відповідав навколишньому середовищу. Оптимальним вважають атмосферний тиск 760 мм.рт.ст. [65].

При проведенні дослідів у лабораторії застосовувався хімічний посуд загального, спеціального призначення і мірний. Найбільш широко використовувалися пробірки. Для забезпечення належного рівня безпеки під час роботи у фізико-хімічній лабораторії, керуються положеннями та загальними правилами, даними в «Правилах охорони праці під час роботи в хімічних лабораторіях» [66, 67].

1. Під час виконання робіт з використанням хімічних реактивів у лабораторії повинно знаходитися не менше двох співробітників та тримати своє робоче місце в чистоті та порядку, без зайвих речей, які заважають роботі.

2. Проводити реакції з леткими та токсичними речовинами необхідно у витяжній шафі.

3. Забороняється набирати реактиви в піпетки ротом, для цієї мети слід використовувати гумову грушу або інші пристрої.

4. Визначати запах хімічних сполук слід обережно, направляючи до себе пари або гази легким рухом руки.

5. Роботи, при яких можливе підвищення тиску, перегрів скляного посуду або його поломка з розбризкуванням гарячих або їдких продуктів, також виконуються у витяжних шафах. Працюючий повинен надіти захисні окуляри (маску), рукавиці й фартух.

6. Під час виконання робіт у витяжній шафі необхідно слідкувати, щоб у шафі знаходилися тільки руки, а спостереження за ходом процесу вести через скло шафи.

7. При роботі з хімічними реактивами необхідно вмикати та вимикати витяжну вентиляцію не менше ніж за 30 хвилин до початку, і після закінчення робіт.

8. Змішування або розведення хімічних речовин, що супроводжується виділенням тепла, слід проводити в термостійкому або фарфоровому посуді.

9. Під час упарюванні в стаканах розчинів слід ретельно перемішувати їх, так як нижній і верхній шари розчинів мають різну щільність, внаслідок чого може статися викидання рідини.

10. Щоб уникнути опіків, уражень від потрапляння реактивів на шкіру не можна нахилитися над посудом, в якій кипить досліджувана рідина.

11. Нагрівання скляного посуду на відкритому вогні без азбестової сітки категорично заборонено.

12. При нагріванні рідини в пробірці її слід тримати отвором в протилежну сторону від себе і від інших співробітників.

Відпрацьовані хімічні реактиви з пробірок виливала у спеціальний посуд. Для запобігання вдихання парів органічних речовин, роботу проводила у витяжній шафі. Також уникала потрапляння цих речовин на шкіру й одяг.

При виконанні своєї роботи я використовувала природне освітлення та штучне освітлення. Відповідно до норми освітлення повинно бути 400 лк, але можуть бути і зміни цього показника в залежності від роботи. Освітлення об'єктів роботи має велике практичне значення. Світло на робочих місцях повинно падати згори та зліва згідно СНіП 11-4-79 від 12.01.2017 р. “Природне і штучне освітлення.” [65]. Місцеве освітлення має забезпечувати потрібну освітленість на окремих робочих місцях. Величина освітленості відповідно до санітарних норм СНіП 11-4-79 нормується залежно від точності роботи, яку виконують, типу ламп, що застосовується і виду освітлення.

Правила роботи з електроприладами були вивішені на видному місці. Згідно з цими правилами я ніколи не розкривала електрообладнання та не робила в ньому ремонт, не використовувала електроприлади з ушкодженою ізоляцією, а також не працювала з незаземленим обладнанням [68].

Виконання правил пожежної безпеки протягом усього дослідження було обов'язковою умовою, що відповідає ДНАОП 0.01-1.01-95 [68]. У лабораторії завжди знаходилися вогнегасник та ковдра. При виникненні аварійної ситуації необхідно ліквідувати джерело її виникнення. При пожежі, в першу чергу, дії

повинні бути спрямовані на забезпечення безпеки та евакуації людей. При виявленні пожежі, необхідно вимкнути від енергопостачання прилади та обладнання; приступити до гасіння пожежі первинними засобами пожежогасіння, а при неможливості здійснення даних дій, вийти з приміщення, щільно зачинити за собою двері та вікна, щоб запобігти приливу свіжого повітря, яке сприятиме швидкому поширенню вогню. негайно викликати пожежну охорону.

В інструкції про заходи пожежної безпеки необхідно відображати такі питання:

- порядок утримання території, будівель, споруд, приміщень та лабораторій, в тому числі евакуаційних шляхів;
- заходи щодо забезпечення пожежної безпеки технологічних процесів при експлуатації обладнання та виробництві пожежонебезпечних робіт;
- розташування місць для куріння, застосування відкритого вогню, проїзду транспорту і проведення вогневих чи інших пожежонебезпечних робіт;
- порядок збору, зберігання і видалення горючих речовин і матеріалів, утримання та зберігання спецодягу;
- допустима кількість одноразово перебувають у приміщеннях сировини, напівпродукту і готової продукції;
- граничні показання контрольно-вимірювальних приладів (манометри, термометри та ін.), відхилення від яких можуть викликати пожежу або вибух;
- обов'язки і дії працівників у разі пожежі, в тому числі при виклику пожежної охорони, аварійної зупинки технологічного обладнання, відключення вентиляції та електрообладнання (в тому числі в разі пожежі і після закінчення робочого дня), користуванні засобами пожежогасіння та пожежної автоматики, евакуації горючих речовин і матеріальних цінностей, огляді і приведення в пожежо- та вибухобезпечний стан всіх приміщень підприємства, в тому числі лабораторій [68].

У разі виникнення непередбаченої екстремальної ситуації змогла б застосувати знання, отриманні при вивченні охорони праці, надати медичну допомогу у разі потреби, знаючи, що перша медична допомога потерпілим повинна надаватись негайно та правильно. У всіх випадках потерпілому забезпечується спокій, приток свіжого повітря. При роботі в лабораторії можуть виникати травми різного характеру внаслідок невмілого використання приладів та ін. Будь-яку рану очищують від забруднення, змазують краї настойкою йоду (рану промивати водою не можна), її дезінфікують 3% розчином перекису водню, накладають стерильну пов'язку. При роботі в лабораторії можуть виникати термічні опіки 1-го, 2-го і навіть 3-го та 4-го ступенів. Допомога при термічних опіках 1-го, 2-го ступеня: зняти обгорілі куски одягу, обробити обпечену поверхню 96% спиртом та накласти пов'язку з протиопіковою маззю [69].

При проведенні досліджень я використовувала люмінесцентний мікроскоп. При роботі з люмінесцентним апаратом, його завжди облаштовували на стійкому, важкому столі. Його робота відповідала правилам охорони праці в лабораторіях згідно ДНАОП 2.1.20-1.20.03-75. З метою уникнення переантаження очей, що може привести до погіршення гостроти зору, я уникала тривалого контакту з мікроскопом [70].

Враховуючи, що тривала робота з комп'ютером призводить до іонізації приміщення позитивними та негативними іонами, я через кожну годину 20 хвилин робила перерви. В цей час провітрювалась кімната. Так як робота з комп'ютером є роботою з тривалим перебуванням в фіксованій позі, я виконувала під час перерви фізичні вправи та вправи для очей [70].

При виконанні робіт на комп'ютерах необхідно дотримуватись вимог загальної та даної інструкції з охорони праці. Робочі місця мають бути розташовані на відстані не менше 1,5 м від стіни з вікнами, від інших стін на відстані 1 м, між собою на відстані не менше 1,5 м. Відносно вікон робоче місце доцільно розташовувати таким чином, щоб природне світло падало на нього

збоку, переважно зліва.

Враховуючи сучасне конструктивне оформлення комп'ютерної техніки - засіб індикації інформації, я дотримувалась при роботі таких правил:

1) не сідала ближче до екрану ніж 50-70 см, знаючи, що на цій відстані α - та β -частки втрачають свій заряд, чим вони найбільш шкідливо впливають на живі клітини організму.

2) враховуючи, що тривала робота з комп'ютером приводить до іонізації приміщення "+" та "-" іонами (аеронами), з котрих негативно на стан здоров'я впливають "+" аерони, я через кожну годину 20 хвилин робила перерви. Норма концентрації μm аеронів від 160 до 5000 в 1 см^3 . Враховуючи, що робота з комп'ютером є роботою з тривалим перебуванням в фіксованій позі, я виконувала під час перерви фізичні вправи та вправи для очей [69, 70].

Таким чином, дотримання встановлених вимог з охорони праці забезпечило створення безпечних умов проведення експерименту, обробки отриманої інформації в лабораторії в результаті чого я не отримала жодного травматизму.

Правовою основою законодавства з охорони праці є Конституція України, Закон України "Про охорону праці", "Про пожежну безпеку", "Про використання ядерної енергії та радіаційного захисту", "Про забезпечення санітарного та епідеміологічного благополуччя населення", "Про загальноосвітнє державне соціальне страхування від нещасного випадку на виробництві та професійного захворювання, які призвели до втрати працездатності», а також Кодекс законів про працю України (КЗпП). Виконання правил техніки безпеки є обов'язковим для всіх. Вивчення курсу "Охорона праці" та дотримання встановлених вимог забезпечило створення безпечних умов проведення експерименту, обробки отриманої інформації в лабораторії в результаті чого я не отримала жодного травматизму.

ВИСНОВКИ

1) Аналіз літературних даних, дозволяє стверджувати, що пошук нових біологічно активних похідних акридину є актуальним. Крім того, аналіз літературних даних показав, що наявні відомі синтетичні методи потребують подальшого розвитку з метою отримання недоступних раніше біологічно активних речовин ряду акридину та нових флуоресцентних барвників для спектральних методів дослідження.

2) Ресинтезовані солі калію та натрію 3-((5-((2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот, 3-((5-((2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанові кислоти, естери 3-((5-((2-*R*-9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-іл)тіо)пропанових кислот та солі 5-((9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-оксадіазол-2-тіолатів. Індивідуальність сполук доведена хроматографічно.

3) Будова ресинтезованих сполук доведена за допомогою спектральних методів аналізу. Досліджено характерні хімічні зсуви функціональних груп на ЯМР-спектрах та частотні коливання на ІЧ-спектрах.

4) Для ресинтезованих сполук були зафіксовані максимуми в спектрах абсорбції ($\lambda_{\text{погл.}}$) і люмінесценції ($\lambda_{\text{фл.}}$), визначений квантовий вихід (Φ), обрахований зсув Стокса. Для спектрів флуоресценції характерно зміщення довжини хвилі в більш короткохвильову по відношенню до сполуки-референт – акридин-9(10*H*)-она за рахунок наявності 1,3,4-оксадіазолу та його замісників у другому положенні. Кількість електроноакцепторних центрів і природа замісників у другому положенні 1,3,4-оксадіазольного фрагменту дозволяє збільшити квантовий вихід флуоресценції. На основі вищенаведеного, нами запропоновані сполуки **3.9**, **3.13**, **3.15**, як нові флуоресцентні барвники з високим квантовим виходом.

5) При фарбуванні мікроорганізмів штаму *Bacillus subtilis* ресинтезованим флуорохромом ізопропіл 3-((5-((9-оксоакридин-10(9*H*)-іл)метил)-1,3,4-

оксадіазол-2-іл)тіо)пропаноат (**3.13**) було виявлено блакитну флуоресценцію ($\lambda_{\text{погл.}} = 384 \text{ нм}$, $\lambda_{\text{фл.}} = 441 \text{ нм}$), високу проникність через клітинну стінку та інтеркаляцію з нуклеїновими кислотами, що дає змогу використовувати його при клініко-біологічних дослідженнях.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Ресинтезовані нові люмінофори з високим квантовим виходом можуть бути застосовані, як нові флуоресцентні барвники, зонди і мітчики, котрі необхідні в якісному та кількісному аналізі протеїнів та нуклеїнових кислот ДНК та РНК. В імунології їх можна використовувати для спостереження взаємодії антигенів з антитілами, в гібридизаційному аналізі, заснованому на взаємодії комплементарних пар олігонуклеотидів, для одержання біологічних зображень методом флуоресцентної мікроскопії та при вирішенні інших медико-біологічних завдань. Розроблена методика фарбування клітин з використанням ресинтезованих люмінофорів може бути застосована для аналізу білок-синтетичного апарату клітини.

Результати досліджень можуть бути використанні в освітньому процесі кафедр хімії та імунології медичних та біологічних вищих навчальних закладів при викладанні навчальних дисциплін : «Біоорганічна хімія», «Сучасні методи досліджень в хімії та біології».

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Машковский М. Д. Лекарственные средства: Москва: Новая волна, 2017. 1216 с.
2. Michael J. P. Acridone Alkaloids. *The Alkaloids: Chemistry and Biology*. 2017. Vol. 78. С. 1-108.
3. Богатырев К. В., Кудрявцева Т. Н., Климова Л. Г. Синтез и оценка антибактериальной активности тиазол-2-илкарбоксамидов акридонкарбоновых и N-фенилантраниловых кислот. *Auditorium*. 2014. № 4. С. 1-6
4. Roda A. K., Guardigli M. A. Analytical chemiluminescence and bioluminescence: latest achievements and new horizons. *Analytical chemistry*. 2012. No 402(1). P. 69 - 76.
5. Сайфитдинова А. Ф. Двумерная флуоресцентная микроскопия для анализа биологических образцов : учебно-методическое пособие. Санкт-Петербург : СОЛО, 2014. 108 с.
6. González-Blanco C., Velázquez M. M., Costa S. M. B., та ін. Fluorescence Study of Acridone in W/O Microemulsions Perturbed by the Addition of Water-Soluble Polymers. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1997. Vol. 189, No. 1. P. 43 - 50.
7. Terai T, Nagano T. Small-molecule fluorophores and fluorescent probes for bioimaging. *Pflugers Arch*. 2015. V. 465. P. 347 - 359.
8. Джилкриста Т. Химия гетероциклических соединений : учебное пособие. Москва : Мир, 1996. 453 с.
9. Ламанов А. Ю. Синтез и антибактериальная активность производных акридин – и акридонкарбоновых кислот содержащих фармакофорные гетероциклические фрагменты: дис. ... канд. хим. наук : 02.00.03 / Курский государственный университет. Курск, 2018. 182 с.

10. Mehul M. Patel, Mimansha D. Mali, Saurabh K. Patel. Bernthsen synthesis, antimicrobial activities and cytotoxicity of acridine derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2010. V. 20, №21. P. 6324 - 6326.

11. Gensicka-Kowalewska M., Cholewiński G., Dzierzbicka K. Recent developments in the synthesis and biological activity of acridine/acridone analogues. *RSC Advances*. 2017. Vol. 7, No. 26. P. 15776-15804

12. Wen J., Tang S., Zhang F., Shi R., Lei A. Palladium/copper Co-catalyzed oxidative C–H/C–H carbonylation of diphenylamines: a way to access acridones. *Org. Lett.* 2017. Vol. 19, №1. P. 94 - 97.

13. Goodrich S., Patel M., Woydziak Z. R. Synthesis of a Fluorescent Acridone Using a Grignard Addition, Oxidation, and Nucleophilic Aromatic Substitution Reaction Sequence. *Jour. of Chem. Education*. 2015. Vol. 92, No. 7. P. 1221 - 1225.

14. Agiamarnioti K., Triantis T., Papadopoulos K., Dimotikali D. Synthesis and chemiluminescent properties of novel biotinylated acridinium esters. *Acta Chim. Slov.* 2004. Vol. 51. P. 67 - 76.

15. Жиров Н. Ф. Люминофоры (светящиеся твердые составы): / за ред. С. И. Вавилов, Б. Я. Свешников. Москва: Государственное издательство оборонной промышленности, 1940. 486 с.

16. Михайленко Н. В., Данова Ю. Е., Белоусова Н. А., Бичеров А. В. Электрохимические и фотофизические свойства замещённых акридинов. *Известия высших учебных заведений. Северо-Кавказский регион*. 2010. № 2. С. 65-68

17. Рожкова Ю. А. Исследование водородных связей акридина в различных агрегатных состояниях: дис. ... канд. физ-мат. наук: 01.04.07 / Санкт-Петербургский государственный университет. Санкт-Петербург, 2014. 98 с.

18. Чочиева С. М., Абаева И. Н., Арутюнянц А. А. Исследование спектрально-люминесцентных свойств производных акридина методом УФ-спектроскопии. *Северо-Осетинский государственный университет им. К. Л. Хетагурова*. 2016. № 1. С. 43 - 45.

19. Рожкова Ю. А., Малкин В. М., Коротков В. И., Цыганенко А. А. Исследование абсорбции акридина на диоксиде кремния методами люминисцентной и ИК – спектроскопии. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 4. Физика. Химия.* 2018. №1. С. 40 - 49

20. Аветисов Р. И., Чередниченко А. Г., Хомяков А. В. Методика измерения спектров фотолюминесценции порошков органических электролюминесцентных препаратов. *Вестник Казанского технологического университета.* 2015. Т.18. № 10. С. 47 - 49.

21. Гетероциклические соединения. Том 4: / за ред. Эльдерфилд Р. Москва : Изд-во иностранной литературы, 1955. 539 с.

22. Макарова Т. А., Сизова А. А. Реакционная способность производных акридина. *Юго-Западный государственный университет.* 2016. № 1. С. 85 - 90.

23. Sondhi S. M., Singh J., Rani R., та ін. Synthesis, anti-inflammatory and anticancer activity evaluation of some novel acridine derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry.* 2010. Vol. 45, No. 2. P. 555 - 563.

24. McCredie K. B. Amsacrine: a new drug for hematological malignancies. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology.* 1985. Vol. 21, №1. P. 1 - 3.

25. P. Kumar, R. Kumar, D. N. Prasad. Synthesis and biological evaluation of new 9-aminoacridine-4-carboxamide derivatives as anticancer agents. *Arabian Journal of Chemistry.* 2015. Vol 6, №1. P. 59 - 65.

26. Mayur Y. C., Zaheeruddin, Peters G. J., Lemos C. Synthesis of 2-fluoro N10-substituted acridones and their cytotoxicity studies in sensitive and resistant cancer cell lines and their DNA intercalation studies. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* 2009. Vol. 342, № 11. P. 640 - 650.

27. Rajendra Prasad V.V.S., Peters G. J., Lemos C. Cytotoxicity studies of some novel fluoro acridone derivatives against sensitive and resistant cancer cell lines and their mechanistic studies. *European Journal of pharmaceutical sciences.* 2011. Vol. 43, №4. P. 217 - 224.

28. Вартамян Р. С. Синтез основных лекарственных средств : учебное пособие. Москва: Медицинское информационное агентство, 2005. 845 с.
29. Croft C., Duparc S. Review of pyronaridine anti-malarial properties and product characteristics. *Malarial journal*. 2012. V. 11. P. 270 - 274.
30. Tripathi R. P., Verma S. S., Pandey J., Agarwal K. C. Search of antitubercular activities in tetrahydroacridines: synthesis and biological evaluation. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2006. Vol. 16, №19. P. 5144 - 5147.
31. Medapi B., Meda N., Kulkarni P., Yogeewari P., Sriram D. Development of acridine derivatives as selective Mycobacterium tuberculosis DNA gyrase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 24, №4. P. 877 - 885.
32. Сысоев П. И. Синтез гетероциклических соединений на основе производных акридонуксусной кислоты : дис. ...канд. хим.н : 02.00.03. Москва, 2015. 140 с.
33. Lyakhov S. A., Litvinova L. A., Suveyzdis Ya. I., Andronati S. A. Interferon induction properties of mono- and bisacridines . *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2000. Vol. 34, №9. P. 474 - 475.
34. Li W. Y., Xu J. G., Guo X. Q., Zhu Q. Z., Zhao Y. B. Study on the interaction between rivanol and DNA and its application to DNA assay. *Spectrochim. Acta Part: Mol. Biomolecular. Spectrosc.* 1997. Vol. 53, №5. P. 781 - 787.
35. Rahimizadeh M., Pordel M., Bakavoli M. Synthesis of imidazo[4,5-a]acridones and imidazo[4,5-a]acridines as potential antibacterial agent. *Monatsh Chemistry*. 2009. Vol. 140. P. 633 - 638.
36. Karthikeyan M. S., Prasad D. J., Mahalinga M., та ін. Antimicrobial studies of 2,4-dichloro-5-fluorophenyl containing oxadiazoles. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2008. Vol. 43, No. 1. P. 25 - 31.
37. Фомина Н. В., Киргизова С. Б., Азнабаева Л. М. Новые возможности лекарственных препаратов, используемых в терапии бактериальных инфекций для профилактики бактерионосительства. *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2015. № 10(185). С. 279 - 281.

38. Wang Y., Guan X.-L., Wu P.-F., Wang C.-M. Multifunctional mercapto-tacrine derivatives for treatment of age-related neurodegenerative diseases. *Journal Medical Chemistry*. 2012. Vol. 55, №7. P. 3588 - 3592.
39. Parveen M., Aslam A., Nami S. A. A., Malla A. M. Potent acetylcholinesterase inhibitors: synthesis, biological assay and docking study of nitro acridone derivatives. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 2016. Vol. 161. P. 304 - 311.
40. Карнаухов В. Н. Люминесцентный анализ клеток : учебное пособие. Пуццино : ИБК РАН, 2002. 131 с.
41. Lerman L. S. The structure of the DNA-acridine complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1963. V. 49. P. 92-98.
42. Вардеванян П. О., Антонян А. П., Парсаданян М. А., Саакян В. Г. Исследование совместного связывания акридинового оранжевого и бромистого этидия с ДНК. *Ереванский государственный университет*. 2017. № 1. С. 74 - 82.
43. Лантух Ю. Д., Пашкевич С. Н., Алиджанов Э. К. Фотофизика оптических функциональных материалов на основе комплексов биополимеров с органическими красителями. *Вестник Оренбургского государственного университета*. 2015. № 13 (188). С. 162 - 167.
44. Saito Y., Hanawa K., Bag S. S.. Synthesis and properties of acridone-labeled base-discriminating fluorescent (BDF) nucleosides. *Nucleic Acids Symposium Series*. 2006. Vol. 50, No. 1. P. 181 - 182.
45. Гришаева Т. И. Методы люминесцентного анализа : учебное пособие для вузов. Санкт-Петербург : АНО НПО "Профессионал", 2003. 226 с
46. Корепанов В. И. Импульсный люминесцентный анализ : учебное пособие. Томск: Издательство Томского политехнического университета, 2008. 131 с.
47. Кусков А. Н., Артюхов А. А., Адылина А. П., Пенкина Ю. А., Тихонова Т. В. Аналитическая химия: физико-химические методы анализа, оптические

методы анализа: учебно – методическое пособие. Москва : "Московский политехнический университет", 2019. 84 с.

48. Физическая химия. Физические методы исследования. Практикум : учебное пособие / под ред. М. Я. Мельникова, Е. П. Агеева, В. В. Лунина. Москва : Академия, 2014. 528 с.

49. Маряхина В. С. Оптические методы в химии, биологии и медицине : монография. Москва : Наука, 2015. 141 с.

50. Brouwer A. M. Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*. 2011. Vol. 83, No. 12. P. 2213 - 2228.

51. Hoover W. G., Gray S. G., Johnson K. W. Thermodynamic Properties of the Fluid and Solid Phases for Inverse Power Potentials. *J. Chem. Phys.* 2017. № 55. P. 1128.

52. Масленников Н. Д., Кипаренко А. М., Буяновская А. Г., Терентьева Е. А. Использование автоматического элементного анализатора фирмы "Карло Эрба", модель 1106 (Италия), для определения углерода, водорода и азота в элементарорганических соединениях. *Журнал Аналитической. Химии.* 1993. Т. 48., №3. С. 547 - 554.

53. Фадеева В. П., Тихова В. Д., Никуличева О. Н. Элементный анализ органических соединений с использованием автоматических CHNS - анализаторов. *Журнал Аналитической. Химии.* 2018. Т. 63., № 11. С. 1197.

54. Walisch W. Eine Ultramikroschnellmethode zur gleichzeitigen Bestimmung des C-H-und N-Gehaltes organischer Verbindungen. *Chem.Ber.* 2016. V.94., №8. P. 2314 - 2319.

55. Карташов В. С. Идентификация лекарственных средств, производных хинолина и акридина, методом спектроскопии ЯМР. *Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии.* 2000. № 3. С. 50 - 52.

56. Браун Д. Спектроскопия органических соединений. Пер. с англ. Москва : Мир, 1992. 278 с.

57. Рымарова М. В., Сипливая Л. Е. Фотолюминисцентные методы анализа: учебное пособие. Курск : КГМУ, 2015. 137 с.

58. Федотов Є. Р. Вивчення функціонального стану лейкоцитів за допомогою кількісної люмінесценції із застосуванням акридинового оранжевого в комплексі імунологічних методів при різних патологіях : дис. ... канд. біол. Наук : 03.00.09 / Запорізький національний університет. Запоріжжя, 2005. 147 с.

59. Koprar M., Çetin A., Cansız A. 5-Furan-2yl[1,3,4]oxadiazole-2-thiol, 5Furan-2yl-4H[1,2,4]triazole-3-thiol and Their Thiol-Thione Tautomerism. *Molecules*. 2005. Vol. 10, No. 12. P. 475 - 480.

60. Karpenko Y., Omelyanchik L. Synthesis of heteryl derivatives of 2,5-disubstituted 1,3,4-oxadiazole. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2017. Vol. 15, No. 4. P. 21 - 32.

61. Зайцев С. Ю., Шапошников М. Н., Соловьева Д. О., Царькова М. С. Флуоресцентные красители: свойства и применение в клеточной биологии. *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. 2015. № 7. С. 73 - 85.

62. Сибирцев В. С. Молекулярная люминометрия в биотехнологических исследованиях : учебное пособие. Санкт Петербург : Университет ИТМО, 2018. 62 с.

63. Карпенко Ю. В. Синтез і властивості нових 10-((1,3,4-оксадіазол-2-іл)метил)акридин-9(10н)-онів : дис. ... канд. хім. наук : 02.00.10 / Запорізький національний університет. Запоріжжя, 2019. 223 с.

64. Raper, E. S. Complexes of heterocyclic thionates. Part 1. Complexes of monodentate and chelating ligands. *Coordination Chemistry Reviews*. 1996. Vol. 153. P. 199 - 255.

65. Трахтенберг І. М., Коршун М. М. Гігієна праці і виробнича санітарія : навч.-метод. посібник. Київ : Основа, 1997. 464 с.

66. Правила безпеки при проведенні учбово-виховного процесу в кабінетах (лабораторіях) хімії загальноосвітніх учбових закладів : затв. наказом

Міністерства надзвичайних ситуацій України від 16.11.98. № 222. Дата оновлення: 16.07.2012. URL: https://dnaop.com/html/32262/doc_9F_80.2-1.01-12 (дата звернення: 15.04.2018).

67. Про затвердження Правил охорони праці під час роботи в хімічних лабораторіях : затв.наказом Міністерством надзвичайних ситуацій України від 2013 р. № 1192. Київ : КМ, 2013. 31 с.

68. Кузнєцов В. А. Пожежна безпека : нач.посібник. Харків : Фактор, 2008. 575 с.

69. Охорона праці та промислова безпека : навч. посібник / К. Н. Ткачук та ін. ; під ред. К. Н. Ткачука, М. О. Халімовського. Київ : Основа, 2006. 448 с.

70. Основи охорони праці : підручник / О. І. Запорожець та ін. 2-ге вид. Київ : ЦУЛ, 2016. 264 с.

**Декларація
академічної доброчесності
здобувача ступеня вищої освіти ЗНУ**

Я Сухенко Валентина Сергіївна, студентка II курсу, форми навчання заочна, факультету біологічного, спеціальність 102 Хімія, адреса електронної пошти suhenkov57@gmail.com,

– підтверджую, що написана мною кваліфікаційна робота на тему «Флуоресцентні властивості похідних акридину» відповідає вимогам академічної доброчесності та не містить порушень, що визначені у ст. 42 Закону України «Про освіту», зі змістом яких ознайомлена;

– заявляю, що надана мною для перевірки електронна версія роботи є ідентичною її друкованій версії;

– згодна на перевірку моєї роботи на відповідність критеріям академічної доброчесності у будь-який спосіб, у тому числі за допомогою інтернет-системи а також на архівування моєї роботи в базі даних цієї системи.

Дата _____ Підпис _____ ПІБ _____
(студент)

Дата _____ Підпис _____ ПІБ _____
(науковий керівник)