

ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Katedra farmaceutické chemie a farmaceutické analýzy

Kandidát: **Mgr. Jiří Demuth**

Školitel: **doc. PharmDr. Veronika Nováková, Ph.D.**

Konzultant: **prof. PharmDr. Petr Zimčík, Ph.D.**

Disertační práce: **Studium azaftalocyaninů jako zhášeců v oligo-deoxynukleotidových sondách**

Ftalocyaniny (Pcs) a azaftalocyaniny (AzaPcs) jsou planární makrocyclické sloučeniny, které mají čistě syntetický původ, byť jsou odvozeny od přírodních barviv – porfyrinů. Díky rozsáhlému 18 π -elektronovému konjugovanému systému mají Pcs a AzaPcs velice zajímavé fotofyzikální vlastnosti, a proto nacházejí uplatnění v elektrotechnice, jako materiál v průmyslu či v medicíně.

Oktaaminoalkyl substituované tetrapyrizinoporfyriziny (TPyzPzs), které patří do rodiny AzaPcs, mají díky extrémně rychlému intramolekulárnímu přenosu náboje prakticky nulovou vlastní fluorescenci. Využitím této schopnosti v oblasti vývoje fluorescenčních sond, kde se dají tyto TPyzPzs použít jako účinné zhášecí pro různé fluorofory, se zabývá tato disertační práce. Takovéto sondy mohou najít uplatnění v různorodých experimentech napříč vědními obory např. biochemie, forenzní či genetická analýza.

Syntetická část disertační práce navazuje na předchozí studium TPyzPzs v naší výzkumné skupině a popisuje návrh struktur a přípravu nesymetrických TPyzPzs určených pro jejich odlišné připojení k oligodeoxynukleotidovému (ODN) řetězci fluorescenční sondy (na jeho 3', 5' konec, respektive doprostřed sondy). Zaváděním rozdílných funkčních skupin (hydroxyl, karboxylová kyselina a/nebo azid) lze pak ovlivnit způsob připojení k ODN vláknu. Vhodnou volbou periferní substituce bylo docíleno snížení agregace látek.

Další část práce vyhodnocuje vliv periferní substituce na funkčnost hydrolyzačních sond (např. TaqMan[®] sond) během kvantitativní polymerázové řetězové reakce (qPCR). Prvně byla vyhodnocována efektivita zhášení TPyzPzs v porovnání s komerčně dostupnými zhášecí fluorescencí. Pro porovnání našich a komerčních sond pro praktické využití při qPCR byla vyvinuta v rámci této práce i modelová metoda, kde Taq polymerázu, používanou v qPCR, nahradila DNáza I. Během pozorování absorpčních spekter bylo zjištěno, že i po navázání na ODN sondu tvoří TPyzPzs J-dimery, které jsou pro sloučeniny typu TPyzPz a obecně i Pc velmi netypickými formami agregace.

Poslední část disertační práce se zabývá právě detailním popisem tvorby J-dimerů u TPyzPzs. Vliv různých faktorů na agregaci je popsán jak na samotných TPyzPzs v organických rozpouštědlech, tak po navázání na ODN sondu a po provedení experimentů v prostředí hybridizačního pufru. Zajímavým fenoménem u ODN sond popsaným poprvé v této práci je tvorba unikátního supramolekulárního heterotetrameru tvořeného J-dimerem TPyzPzs a dvěma molekulami fluoresceinu.