

СИНТЕЗ ФЛУОРЕСЦЕНТНОГО КРАСИТЕЛЯ И ГИДРОГЕЛЯ
НА ЕГО ОСНОВЕ ДЛЯ ДЕТЕКТИРОВАНИЯ ГЛЮКОЗЫА. А. ВАЙТУСЁНОК^{1), 2)}, Е. В. СОКОЛЬНИКОВА²⁾,
Г. С. БОРОВОЙ¹⁾, Г. И. МИНАКОВ²⁾, С. В. КОСТЮК¹⁾¹⁾ Научно-исследовательский институт физико-химических проблем БГУ,
ул. Ленинградская, 14, 220006, г. Минск, Беларусь²⁾ Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Аннотация. Разработана пятистадийная методика синтеза чувствительного к глюкозе флуоресцентного красителя, состоящего из двух фрагментов бороновой кислоты и фрагмента антрацена. На основе полученного красителя был синтезирован флуоресцентный гидрогель. Показано, что интенсивность флуоресценции синтезированного красителя напрямую зависит от концентрации глюкозы, увеличение которой приводит к усилению флуоресценции. Полученный флуоресцентный гидрогель может использоваться при создании подкожного датчика глюкозы.

Ключевые слова: антрацен; флуоресцентный краситель; гидрогель; непрерывный мониторинг глюкозы.

Благодарность. Работа выполнена в рамках договора № 28/136-82/21 с производственным унитарным предприятием «ФреБор», а также в рамках государственной программы научных исследований «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биооргхимия» (задание 2.2.02.04 «Синтез термочувствительных полимеров и гидрогелей на их основе для тканевой инженерии и доставки лекарств», № гос. регистрации 20211517).

Образец цитирования:

Вайтусёнок АА, Сокольникова ЕВ, Боровой ГС, Минаков ГИ, Костюк СВ. Синтез флуоресцентного красителя и гидрогеля на его основе для детектирования глюкозы. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия.* 2025;1:37–47. EDN: RZGBVT

For citation:

Vaitusionak AA, Sokolnikova EV, Baravoi HS, Minakov GI, Kostjuk SV. Synthesis of fluorescent dye and hydrogel therefrom for detection of glucose. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry.* 2025;1:37–47. Russian. EDN: RZGBVT

Авторы:

Алексей Александрович Вайтусёнок – кандидат химических наук, доцент; старший научный сотрудник лаборатории катализа полимеризационных процессов¹⁾, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории радиохимии химического факультета²⁾.

Екатерина Витальевна Сокольникова – магистрант кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета. Научный руководитель – А. А. Вайтусёнок.

Глеб Сергеевич Боровой – техник лаборатории катализа полимеризационных процессов.

Григорий Игоревич Минаков – соискатель кафедры высокомолекулярных соединений химического факультета.

Сергей Викторович Костюк – доктор химических наук, профессор; главный научный сотрудник лаборатории катализа полимеризационных процессов.

Authors:

Aliaksei A. Vaitusionak, PhD (chemistry), docent; senior researcher at the laboratory of catalysis of polymerisation processes^a and senior researcher at the research laboratory of radiochemistry, faculty of chemistry^b.

vaitusionak@bsu.by

<https://orcid.org/0009-0004-0337-5438>

Ekaterina V. Sokolnikova, master's degree student at the department of macromolecular compounds, faculty of chemistry.

sokolnikova.katka@yandex.by

Hleb S. Baravoi, technician at the laboratory of catalysis of polymerisation processes.

glebbarovoj268@gmail.com

Grigory I. Minakov, competitor at the department of macromolecular compounds, faculty of chemistry.

gregadres13@gmail.com

Sergei V. Kostjuk, doctor of science (chemistry), full professor; chief researcher at the laboratory of catalysis of polymerisation processes.

kostjuks@bsu.by

<https://orcid.org/0000-0002-7466-3662>

SYNTHESIS OF FLUORESCENT DYE AND HYDROGEL THEREFROM FOR DETECTION OF GLUCOSE

A. A. VAITUSIONAK^{a,b}, E. V. SOKOLNIKOVA^b,
H. S. BARAVOI^a, G. I. MINAKOV^b, S. V. KOSTJUK^a

^aResearch Institute for Physical Chemical Problems, Belarusian State University,
14 Leningradskaja Street, Minsk 220006, Belarus

^bBelarusian State University, 4 Niezaliezhnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Corresponding author: A. A. Vaitusionak (vaitusionak@bsu.by)

Abstract. As a result of the study, an five-step procedure for the synthesis of a glucose-sensitive fluorescent dye consisting of two boronic acid fragments and an anthracene fragment was developed. Fluorescent hydrogel was then prepared based on the synthesised dye. It was shown that the fluorescence intensity of the synthesised dye directly depends on the concentration of glucose, the increase of which leads to fluorescence enhancement. The synthesised fluorescent hydrogel can be used for fabrication of subcutaneous glucose sensor.

Keywords: anthracene; fluorescent dye; hydrogel; continuous glucose monitoring.

Acknowledgements. This work was carried out within the framework of the agreement No. 28/136-82/21 with production unitary enterprise «FreBor» and within the framework of the state programme of scientific research «Chemical processes, reagents and technologies, bioregulators and bioorgchemistry» (assignment 2.2.02.04 «Synthesis of thermosensitive polymers and hydroshells based on them for tissue engineering and drug delivery», state registration No. 20211517).

Введение

Заболеваемость сахарным диабетом увеличивается во всех возрастных группах [1; 2]. В целях предотвращения осложнений этого заболевания необходимо поддерживать нормальную концентрацию глюкозы в крови [3–6]. В настоящее время для точного анализа концентрации глюкозы в крови используется метод взятия пробы крови из кончика пальца. Однако данный метод не позволяет прогнозировать изменения уровня глюкозы. Напротив, непрерывный мониторинг глюкозы (НМГ) дает возможность пациентам с сахарным диабетом легко отмечать изменения концентрации глюкозы в крови. Для НМГ используют имплантируемые датчики глюкозы. Эти датчики способны предоставлять последовательную информацию о концентрации глюкозы в крови пациентам с сахарным диабетом, а также подают предупреждающий сигнал в случае, когда у пациентов наступает гипо- или гипергликемия (даже в то время, когда пациент спит) [7; 8]. Однако в целях качественного функционирования имплантируемые датчики глюкозы должны иметь внешние каналы связи для непрерывного сбора образцов или передачи сигналов, что повышает риск развития бактериальных инфекций [9].

Недавно для НМГ был предложен оптический метод, основанный на использовании флуоресцентных шариков [10–13]. Этот метод обеспечивает беспроводную передачу сигнала через кожу и более длительную активность *in vivo* по сравнению с методами, основанными на использовании ферментов [14–17], которые требуют проведения электрохимической реакции. Однако из-за недостаточной интенсивности флуоресценции, необходимой для трансдермального обнаружения, а также из-за токсичности материала имплантируемые датчики глюкозы, основанные на флуоресцентном принципе, еще не созданы [18]. Поэтому целью настоящего исследования является разработка методики синтеза флуорофора (красителя), интенсивность флуоресценции которого чувствительна к концентрации глюкозы, а также гидрогеля на его основе. Результаты работы могут быть использованы при создании подкожного датчика глюкозы на базе синтезированного флуоресцентного гидрогеля.

Материалы и методы исследования

Аргон очищали с помощью газоочистительного прибора, предназначенного для тонкой очистки инертных газов от различных примесей и содержащего колонки с активированной окисью алюминия марки АОА-1, никель-хромовым катализатором марки ТХ МБД № 1641 С-54, синтетическими цеолитами марок NaA и NaX.

Хлористый метилен квалификации «х. ч.» (АО «Экос-1», Россия) и хлороформ квалификации «х. ч.» (АО «Химреактив», Россия) обрабатывали концентрированной серной кислотой несколько раз (до исчезновения окраски серной кислоты), после чего промывали дистиллированной водой до нейтральной реакции, сушили над CaCl_2 , кипятили и перегоняли под током аргона при нормальном давлении с использованием CaH_2 . Тoluол квалификации «ч. д. а.» (АО «Химреактив») кипятили в инертной атмосфере над CaH_2 с добавлением бензофенона до посинения раствора, что свидетельствовало об отсутствии воды, и далее перегоняли под током аргона при нормальном давлении. Четыреххлористый углерод квалификации «х. ч.» (АО «Химреактив») обрабатывали от примесей перемешиванием горячего растворителя с 10 об. % концентрированного спиртового раствора KOH . Эту процедуру повторяли несколько раз, после чего растворитель промыли водой до нейтральной реакции, высушивали над CaCl_2 и перегоняли под током аргона при нормальном давлении. N,N-диметилформамид квалификации «ос. ч.» (АО «Экос-1») кипятили над CaCl_2 в токе аргона и затем перегоняли. Соляную кислоту квалификации «х. ч.» (АО «Химреактив»), 9,10-диметилантрацен с чистотой 97 % (*Sigma-Aldrich*, Германия), метанол с чистотой 99,9 % (*Honeywell*, США), N-бромсукцинимид для синтеза (*Sigma-Aldrich*), гексаметилендиамин для синтеза (*Sigma-Aldrich*), 2,2-диметилпропан-1,3-диол с чистотой 99,6 % (*Chem-Impex International Inc.*, США), ди-*mpem*-бутилдикарбонат (*Sigma-Aldrich*), диизопропилэтиламин для синтеза (*Sigma-Aldrich*), *o*-толилбороновую кислоту с чистотой 98,56 % (*Chem-Impex International Inc.*) использовали без предварительной очистки.

Чистоту синтезированных веществ контролировали методом ЯМР ^1H спектроскопии. Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Avance 500 (США) при рабочих частотах 500 МГц (^1H), в качестве растворителей использовали $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$ и CDCl_3 .

Флуоресцентные свойства красителя (GF-dye) исследовали с помощью спектрофлуориметра Cary Eclipse (*Agilent Technologies*, США).

Синтез GF-dye состоит из пяти стадий, представленных на рис. 1.

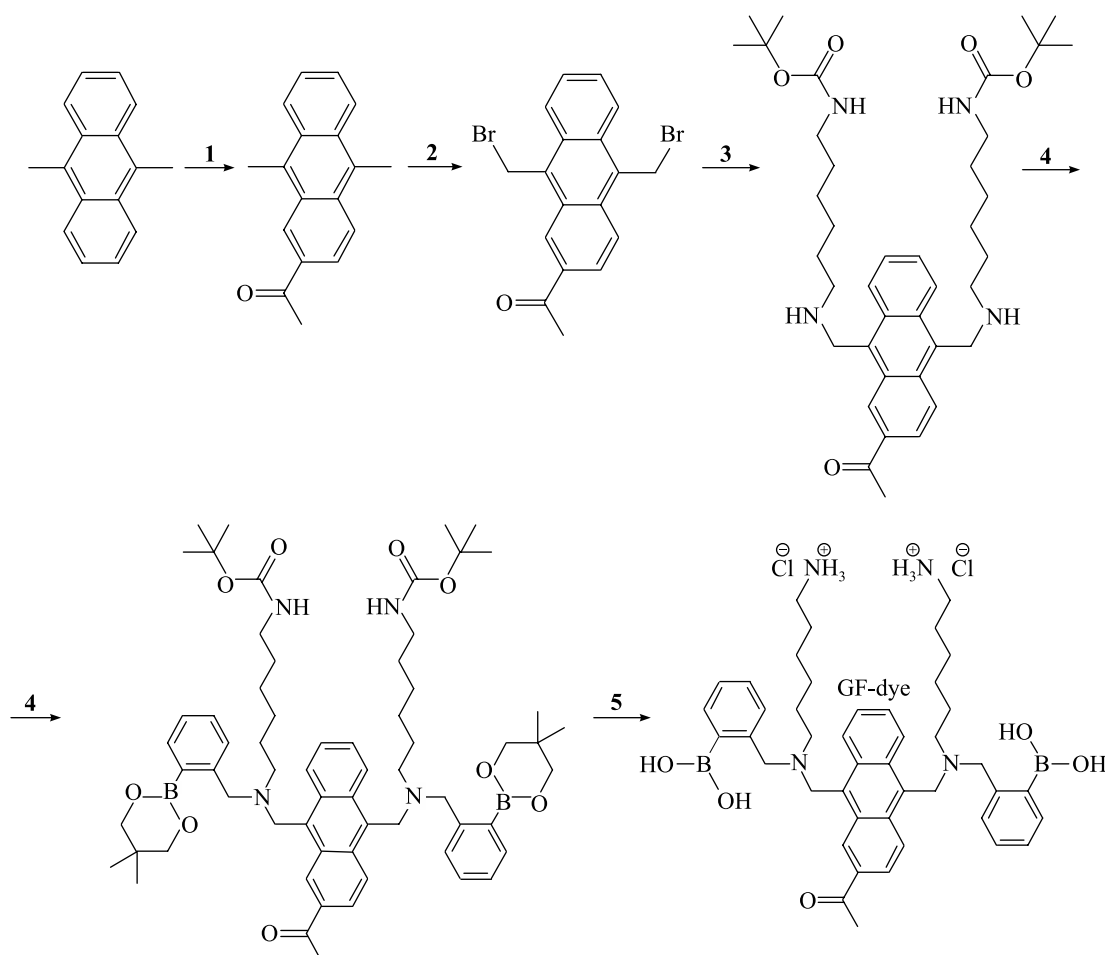


Рис. 1. Схема синтеза GF-dye

Fig. 1. GF-dye synthesis scheme

Синтез 2-ацетил-9,10-диметилантрацена. На первой стадии к смеси 1,03 г 9,10-диметилантрацена (0,005 моль) и 0,99 г хлорида алюминия (0,0074 моль) в 30 мл хлористого метилена прикапывали 0,43 мл ацетилхлорида (0,006 моль) при 0 °С в течение 30 мин. Затем смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 6 ч и после этого кипятили 1 ч. Гашение реакционной смеси производили путем добавления 50 г колотого льда и 2,7 мл концентрированной соляной кислоты. Далее полученную смесь трижды экстрагировали 30 мл хлористого метилена, после чего органическую фракцию трижды промывали дистиллированной водой, высушивали сульфатом натрия и выпаривали. Очистку продукта осуществляли методом колоночной хроматографии на силикагеле с хлороформом в качестве элюента. Выход продукта составил 52 % (0,645 г). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (500 МГц, CDCl_3): 9,01 (д, 1H), 8,30–8,38 (м, 3H), 8,01 (д, 1H), 7,53–7,62 (м, 2H), 3,18 (с, 3H), 3,09 (с, 3H), 2,79 (с, 3H).

Синтез 2-ацетил-9,10-ди(бромметил)антрацена. На второй стадии смесь 0,34 г 2-ацетил-9,10-диметилантрацена (1,37 ммоль), 0,54 г N-бромсукцинимиды (3,03 ммоль), 0,005 г перекиси бензоила (0,0207 ммоль), 4 мл хлороформа и 10 мл четыреххлористого углерода кипятили в течение 2 ч. После окончания реакции растворитель полностью выпаривали и к полученной смеси добавляли 10 мл метанола. Перемешивали в течение 10 мин, фильтровали и промывали осадок при помощи 2 мл метанола. Полученный продукт сушили на вакууме. Выход продукта составил 59 % (0,330 г). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (500 МГц, CDCl_3): 9,0 (д, 1H), 8,34–8,44 (м, 3H), 8,17 (д, 1H), 7,68–7,77 (м, 2H), 5,54 (с, 2H), 5,48 (с, 2H), 2,82 (с, 3H).

Синтез *трет*-бутил(6-аминогексил)карбамата. Для проведения третьей стадии синтеза GF-dye необходимо также получить *трет*-бутил(6-аминогексил)карбамат. Для этого к раствору 10 г гексаметилендиамина (86 ммоль) в 35 мл хлористого метилена прикапывали 3,95 мл ди-*трет*-бутилдикарбоната (17 ммоль) при 0 °С в течение 30 мин, после чего смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 18 ч. Затем полученную смесь разбавляли хлористым метиленом (60 мл) и промывали дистиллированной водой 7 раз. Органическую фракцию высушивали сульфатом натрия, выпаривали и получали 3,33 г продукта ($\eta = 90\%$). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (500 МГц, CDCl_3): 4,52 (с, 1H), 2,99–3,15 (м, 4H), 2,67 (т, 2H), 1,17–1,53 (м, 17H).

Синтез 2-ацетил-9,10-ди(*трет*-бутил(6-аминогексил)карбамат)метил)антрацена. На третьей стадии смесь 0,320 г 2-ацетил-9,10-ди(бромметил)антрацена (0,79 ммоль), 0,681 г синтезированного *трет*-бутил(6-аминогексил)карбамата (3,2 ммоль), 4,5 мл N,N-диметилформамида и 0,742 мл диизопропилэтиламина (4,3 ммоль) перемешивали при 45 °С в течение 1 ч. Далее полученную смесь разбавляли хлороформом (20 мл), трижды промывали дистиллированной водой, высушивали сульфатом натрия и выпаривали. Очистку продукта производили методом колоночной хроматографии на силикагеле с элюентом, состоящим из смеси хлороформа и метанола. Выход продукта составил 57 % (0,302 г).

Синтез 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*о*-метилфенил)бората. Для проведения четвертой стадии синтеза GF-dye необходимо также получить 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*о*-(бромметил)фенил)борат, синтез которого состоит из двух последовательных реакций. В ходе первой реакции смесь 0,712 г *о*-толилбороновой кислоты (5,24 ммоль) и 0,712 г 2,2-диметилпропан-1,3-диола (6,84 ммоль) растворяли в 25 мл толуола. Полученный раствор кипятили в течение 20 ч с насадкой Дина – Старка. После выпаривания растворителя очистку продукта производили методом колоночной хроматографии на силикагеле с хлористым метиленом в качестве элюента. Выход продукта составил 96 % (1,024 г). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (500 МГц, CDCl_3): 7,73 (д, 1H), 7,28 (т, 1H), 7,11–7,17 (м, 2H), 3,78 (с, 4H), 2,52 (с, 3H), 1,04 (с, 6H). При проведении второй реакции смесь 1,014 г 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*о*-метилфенил)бората (4,97 ммоль), 0,929 г N-бромсукцинимиды (5,22 ммоль), 0,012 г азобисизобутиронитрила (0,069 ммоль) и 14 мл четыреххлористого углерода кипятили в течение 16 ч. Полученный осадок отфильтровывали, промывали небольшим количеством четыреххлористого углерода и высушивали при пониженном давлении. Выход продукта составил 95 % (1,336 г). Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д. (500 МГц, CDCl_3): 7,80 (д, 1H), 7,33–7,38 (м, 2H), 7,24–7,30 (м, 1H), 4,93 (с, 2H), 3,81 (с, 4H), 1,06 (с, 6H).

Синтез GF-dye. На четвертой стадии синтеза GF-dye смесь 0,302 г 2-ацетил-9,10-ди(*трет*-бутил(6-аминогексил)карбамат)метил)антрацена (0,45 ммоль), 0,506 г синтезированного 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*о*-(бромметил)фенил)бората (1,79 ммоль), 6,2 мл N,N-диметилформамида и 0,207 мл диизопропилэтиламина (1,2 ммоль) перемешивали при 40 °С в течение 1 ч. Далее полученную смесь разбавляли хлороформом (40 мл), трижды промывали дистиллированной водой, высушивали над сульфатом натрия, фильтровали и выпаривали. Очистку продукта производили методом колоночной хроматографии на силикагеле с элюентом, состоящим из смеси хлороформа и метанола. Выход продукта составил 63 % (0,304 г).

На пятой стадии синтеза GF-dye 0,102 г (0,094 ммоль) полученного на предыдущей стадии продукта обрабатывали смесью, состоящей из 2,66 мл метанола и 1,33 мл концентрированной соляной кислоты, в течение 9 ч при комнатной температуре. Затем растворитель выпаривали и высушивали полученный продукт при пониженном давлении. В результате на пятой стадии был синтезирован GF-dye с количественным выходом (0,077 г).

Синтез гидрогеля. Получение гидрогеля на основе GF-dye проводили по следующей методике. К смеси, состоящей из 50 мг GF-dye, 1 г акриламида и 0,02 г N,N'-метиленабисакриламида, добавляли 10 мл 60 ммоль/л фосфатного буфера (pH 7,4), после чего полученную смесь продували аргоном в течение 30 мин. Затем в реакционную смесь вносили 0,02 г персульфата натрия и 0,0116 мл N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина и перемешивали полученную смесь при 37 °C в течение 30 мин, в результате чего образовался гидрогель.

Результаты и их обсуждение

Для синтеза GF-dye на первой стадии получали 2-ацетил-9,10-диметилантрацен путем ацилирования по Фриделю – Крафту 9,10-диметилантрацена ацетилхлоридом в присутствии хлорида алюминия. Чтобы минимизировать образование побочного продукта дизамещения, ацетилхлорид постепенно при-капывали к реакционной смеси.

Полученный продукт выделяли и очищали методом колоночной хроматографии. Структуру синтезированного 2-ацетил-9,10-диметилантрацена подтверждали методом ЯМР ^1H спектроскопии (рис. 2). Сигналы от ароматических протонов антрацена (*d*, *e*, *f*, *g*) можно обнаружить в области 7,5–9,0 м. д., тогда как сигнал от алифатических протонов ацильной группы (*a*) располагается в области 2,8 м. д., а метильные протоны фрагмента антрацена (*b*, *c*) дают сигнал в области 3,2 м. д. В спектре также можно найти пик, соответствующий хлороформу (7,26 м. д.).

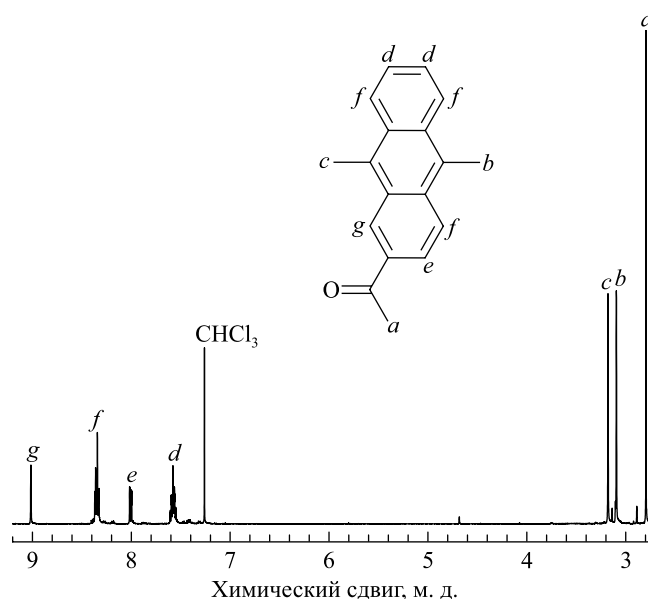


Рис. 2. Спектр ЯМР ^1H синтезированного 2-ацетил-9,10-диметилантрацена

Fig. 2. NMR ^1H spectrum of the synthesised 2-acetyl-9,10-dimethylantracene

Далее 2-ацетил-9,10-диметилантрацен бромировали по радикальному механизму в присутствии N-бромсукцинимидом и перекиси бензоила, в результате чего образовался 2-ацетил-9,10-ди(бромметил)антрацен. Реакция ароматических соединений с N-бромсукцинимидом в CCl_4 в присутствии радикальных инициаторов является общим методом их бромирования в бензильное положение.

Структуру синтезированного 2-ацетил-9,10-ди(бромметил)антрацена подтверждали методом ЯМР ^1H спектроскопии (рис. 3). Сигналы от ароматических протонов антрацена (*d*, *e*, *f*, *g*) можно обнаружить в области 7,6–9,0 м. д., алифатические протоны ацильной группы (*a*) дают сигнал в области 2,8 м. д., в то время как сигналы от метиленовых протонов фрагмента антрацена (*b*, *c*) сместились в слабое поле (5,5 м. д.) по сравнению с сигналами от протонов 2-ацетил-9,10-диметилантрацена, что указывает на протекание реакции бромирования.

Для проведения третьей стадии синтеза GF-dye необходимо дополнительно получить *трет*-бутил(6-аминогексил)карбамат. Данное вещество было синтезировано реакцией ацилирования гексаметилендиамина ди-*трет*-бутилкарбонатом согласно схеме, представленной на рис. 4.

Структуру полученного вещества изучали при помощи ЯМР ^1H спектроскопии (рис. 5). Сигналы от протонов *трет*-бутильной группы (*a*) можно обнаружить в области 1,4 м. д. Протоны аминогруппы (*g*) дают сигналы в области 3,15 м. д., в то время как протоны амидной группы (*b*) смещены в более слабое поле (4,55 м. д.). Остальные протоны гексаметиленового фрагмента (*c*, *d*, *e*, *f*) располагаются в области 1,30 м. д. (*e*), 1,45 м. д. (*d*), 2,67 м. д. (*f*), 3,15 м. д. (*c*).

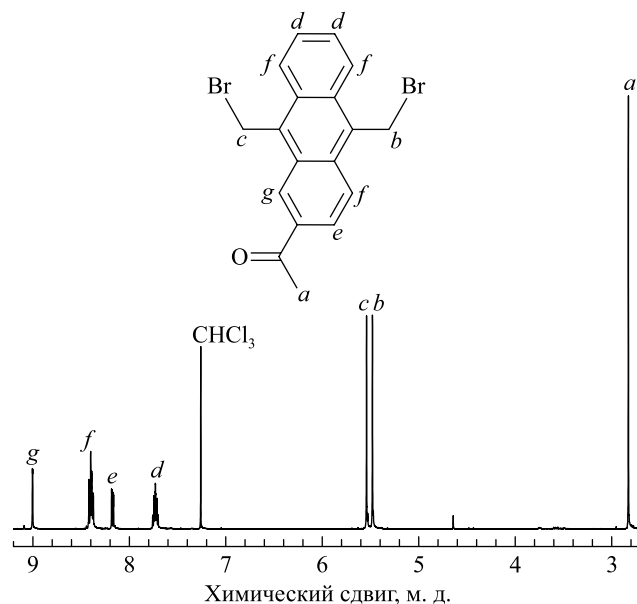


Рис. 3. Спектр ЯМР ^1H синтезированного 2-ацетил-9,10-ди(бромметил)антрацена
Fig. 3. NMR ^1H spectrum of the synthesised 2-acetyl-9,10-di(bromomethyl)anthracene

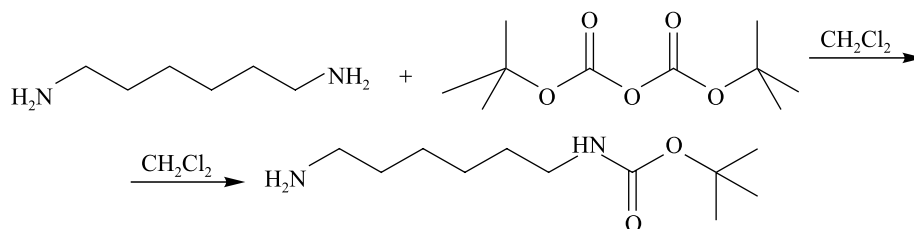


Рис. 4. Схема синтеза *трет*-бутил(6-аминогексил)карбамата
Fig. 4. Scheme for the synthesis of *tert*-butyl(6-aminohexyl)carbamate

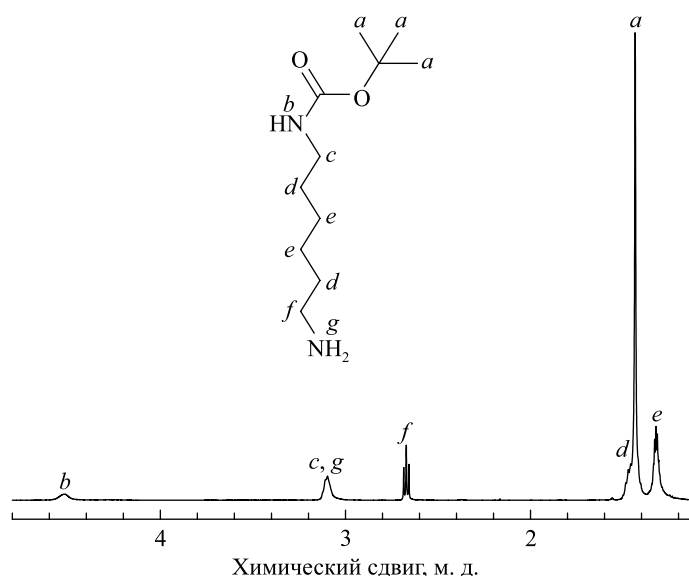


Рис. 5. Спектр ЯМР ^1H синтезированного *трет*-бутил(6-аминогексил)карбамата
Fig. 5. NMR ^1H spectrum of the synthesised *tert*-butyl(6-aminohexyl)carbamate

Далее под действием синтезированного *трет*-бутил(6-аминогексил)карбамата в ходе реакции нуклеофильного замещения в присутствии диизопропилэтиламина из 2-ацетил-9,10-ди(бромметил)антрацена получали 2-ацетил-9,10-ди((*трет*-бутил(6-аминогексил)карбамат)метил)антрацен.

Структуру синтезированного продукта подтверждали методом ЯМР ^1H спектроскопии (рис. 6). Сигналы от протонов *трет*-бутильной группы (*a*) можно обнаружить в области 1,4 м. д. Протоны аминогруппы (*f*) и протоны амидной группы (*b*) смещены в более слабое поле (4,55 м. д.). Протоны гексаметиленового фрагмента (*c*, *d*, *e*) дают сигналы в области 1,3 м. д. (*e*), 1,4 м. д. (*d*), 3,15 м. д. (*c*). Сигнал от протона карбонильной группы (*h*) можно обнаружить в области 2,6 м. д., в то время как алифатический протон (*g*) располагается в области (4,55 м. д.).

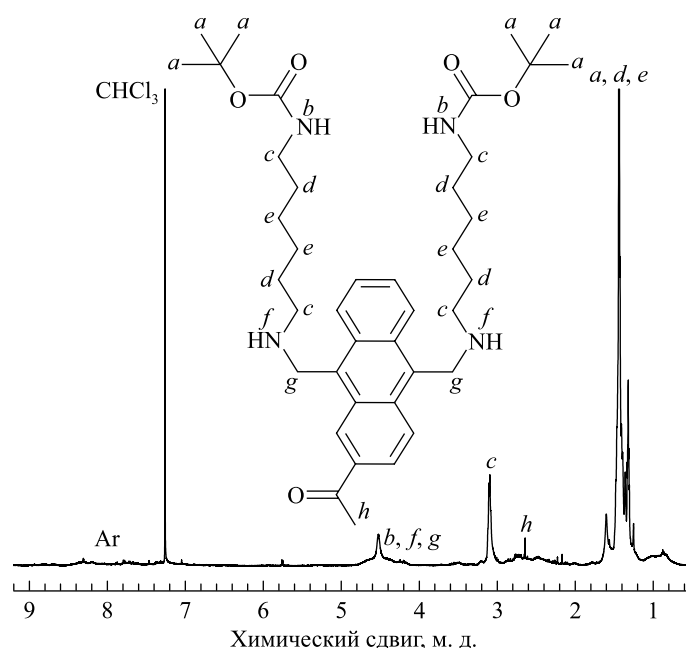


Рис. 6. Спектр ЯМР ^1H синтезированного
2-ацетил-9,10-ди((*трет*-бутил(6-аминогексил)карбамат)метил)антрацена

Fig. 6. NMR ^1H spectrum of the synthesised
2-acetyl-9,10-di((*tert*-butyl(6-aminohexyl)carbamate)methyl)anthracene

Для следующей стадии необходимо получить 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*o*-(бромметил)фенил)борат, синтез которого проходил в две реакции (рис. 7). В ходе первой реакции синтезировали 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*o*-метилфенил)борат вследствие взаимодействия *o*-толилбороновой кислоты с 2,2-диметилпропан-1,3-дио́лом. В ходе второй реакции 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*o*-метилфенил)борат бромировали по радикальному механизму в присутствии *N*-бромсукцинимид и азобисизобутиронитрила, в результате чего образовался 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*o*-(бромметил)фенил)борат.

Структуру синтезированного 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*o*-(бромметил)фенил)бората подтверждали методом ЯМР ^1H спектроскопии (рис. 8, *b*). Сигнал от метильных протонов (*a*) можно обнаружить в области 1 м. д., в то время как метильные протоны (*b*) смещены в область 3,8 м. д. из-за влияния кислорода. Серия многократно расщепленных пиков, значения химических сдвигов которых располагаются на отрезке 7,2–7,8 м. д., соответствует протонам бензольного кольца (*e*, *d*, *f*, *g*). Стоит отметить, что после присоединения брома метильные протоны фрагмента бензольного кольца (*c*) сдвинулись в более слабое поле (4,95 м. д.) по сравнению с метильными протонами 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*o*-метилфенил)бората (рис. 8, *a*). На основании данного сдвига можно сделать вывод о том, что реакция была проведена успешно.

Далее 2-ацетил-9,10-ди((*трет*-бутил(6-аминогексил)карбамат)метил)антрацен вступал в реакцию нуклеофильного замещения с синтезированным ранее 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*o*-(бромметил)фенил)боратом, продукт которой под действием соляной кислоты образует GF-dye. Структуру синтезированного GF-dye подтверждали методом ЯМР ^1H спектроскопии (рис. 9). Сигналы от протонов гексаметиленового фрагмента (*c*, *d*, *e*, *b*) располагаются в области 1,3 м. д. (*e*), 1,4 м. д. (*d*), 2,5 м. д. (*c*) и 2,7 м. д. (*b*). Протон карбонильной группы (*h*) дает сигнал в области 2,7 м. д. Сигналы от метиленовых протонов (*g*) и (*f*) совпадают и располагаются в области 4,15 м. д., что свидетельствует о протекании реакции замещения. Методика получения GF-dye подобрана таким образом, чтобы минимизировать затраты на реагенты и вспомогательные вещества.

За счет радикальной сополимеризации акриламида и N,N'-метиленисакриламида в среде фосфатного буфера синтезировали флуоресцентный гидрогель на основе GF-dye. Вид полученного гидрогеля представлен на рис. 10.

Обнаружение глюкозы с использованием подобных флуорофоров становится возможным благодаря протекающему взаимодействию, механизм которого показан на рис. 11. В отсутствие молекул глюкозы флуоресценция антрацена гасится фотоиндуцированным переносом электронов от неподеленной электронной пары атома азота к антрацену. Когда молекулы глюкозы связываются с дибороновой кислотой, сильное взаимодействие между атомом азота и атомом бора ингибирует перенос электронов [18].

Таким образом, по мере увеличения концентрации глюкозы флуоресценция антрацена усиливается, что было подтверждено при анализе соответствующих спектров флуоресценции (рис. 12). Для этого в кювету с флуоресцентным гидрогелем, синтезированным на основе GF-dye, порционно добавляли водный раствор глюкозы ($C = 40$ мг/мл), постепенно увеличивая концентрацию глюкозы в кювете с 0 до 1 мг/мл.

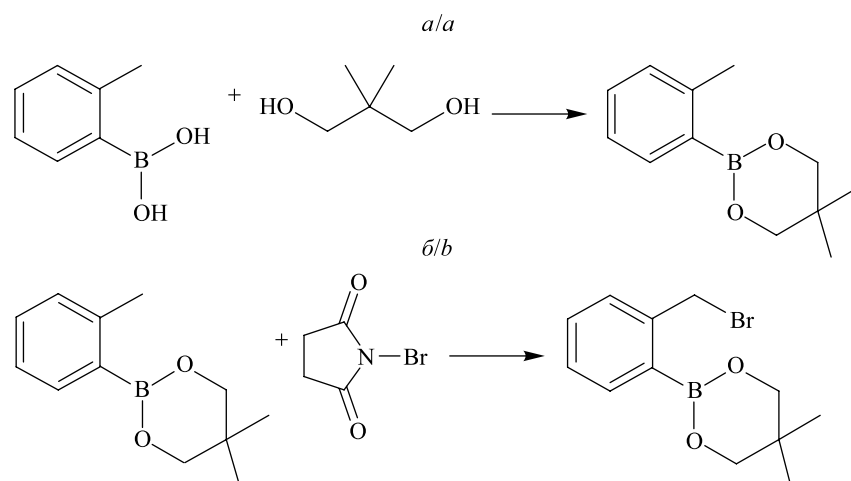


Рис. 7. Схема синтеза 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*о*-(бромметил)фенил)бората:

a – первая реакция; *б* – вторая реакция

Fig. 7. Scheme of the synthesis of 2,2-dimethylpropane-1,3-diyl(*o*-(bromomethyl)phenyl)borate:

a – the first reaction; *b* – the second reaction

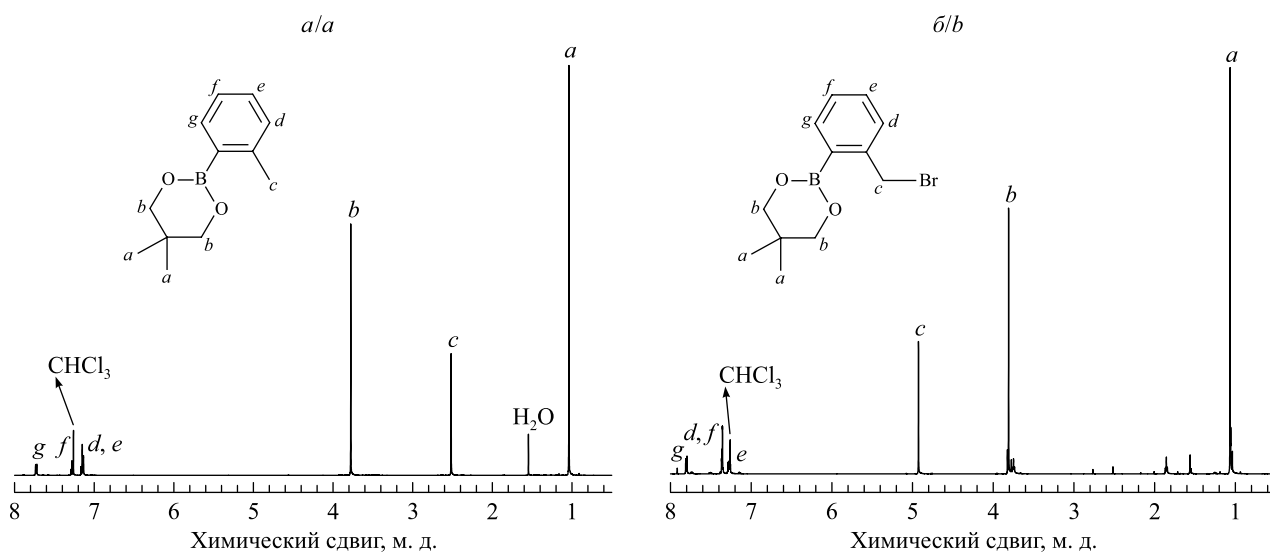


Рис. 8. Спектры ЯМР ^1H синтезированных

2,2-диметилпропан-1,3-диил(*о*-метилфенил)бората (*a*)
и 2,2-диметилпропан-1,3-диил(*о*-(бромметил)фенил)бората (*б*)

Fig. 8. NMR ^1H spectrum of the synthesised

2,2-dimethylpropane-1,3-diyl(*o*-methylphenyl)borate (*a*)
and 2,2-dimethylpropane-1,3-diyl(*o*-(bromomethyl)phenyl)borate (*b*)

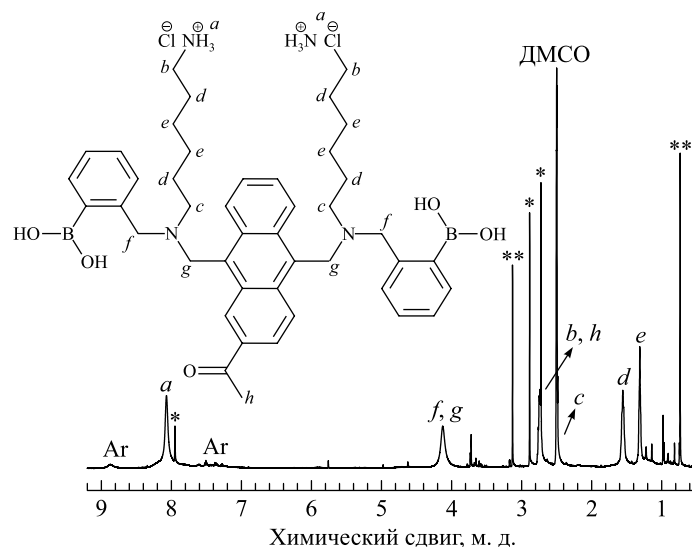


Рис. 9. Спектр ЯМР ^1H синтезированного GF-dye.
Знаком * обозначены сигналы от примеси N,N-диметилформамида,
знаком ** – сигналы от примеси 2,2-диметилпропан-1,3-диола

Fig. 9. NMR ^1H spectrum of the synthesised GF-dye.
The sign * indicates signals from the impurity of N,N-dimethylformamide,
the sign ** indicates signals from the impurity of 2,2-dimethylpropane-1,3-diol



Рис. 10. Флуоресцентный гидрогель,
синтезированный на основе GF-dye

Fig. 10. Synthesised fluorescent hydrogel based on GF-dye

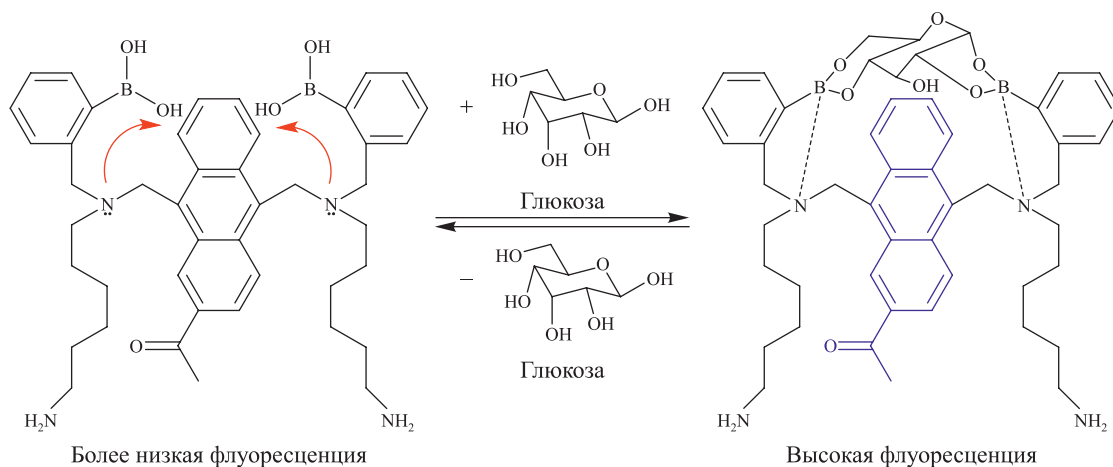


Рис. 11. Принцип изменения флуоресценции GF-dye в зависимости от наличия глюкозы
Fig. 11. The principle of changes in GF-dye fluorescence depending on the presence of glucose

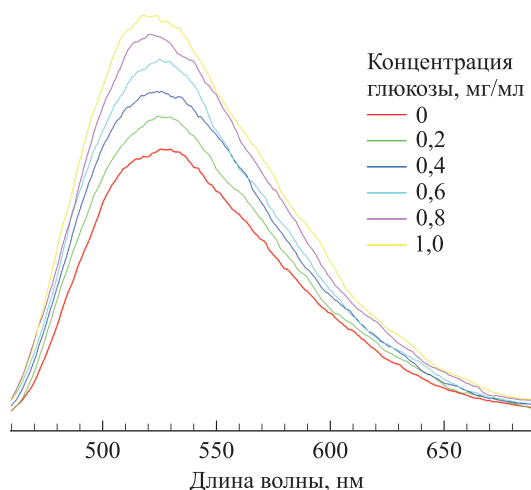


Рис. 12. Спектры флуоресценции гидрогеля, синтезированного на основе GF-dye, в присутствии различных концентраций глюкозы ($\lambda_{ex} = 350$ нм)

Fig. 12. Fluorescence spectra of the synthesised fluorescent hydrogel based on GF-dye in the presence of different glucose concentrations ($\lambda_{ex} = 350$ nm)

Таким образом, можно сделать вывод о том, что интенсивность флуоресценции гидрогеля, синтезированного на основе GF-dye, напрямую зависит от концентрации глюкозы, увеличение которой приводит к усилению флуоресценции. Полученный флуоресцентный гидрогель можно использовать при создании подкожного датчика глюкозы.

Заключение

В результате исследования разработана пятистадийная методика синтеза чувствительного к глюкозе флуоресцентного красителя, состоящего из двух фрагментов бороновой кислоты и фрагмента антрацена. В присутствии синтезированного красителя проведена радикальная сополимеризация акриламида и N,N'-метиленабисакриламида в среде фосфатного буфера для получения флуоресцентного гидрогеля. Выходы всех стадий являются достаточно высокими для реакций подобного типа, и их значения лежат в интервале от 52 до 96 %. Структура и чистота всех синтезированных соединений подтверждена методом ЯМР ^1H спектроскопии. Также показано, что интенсивность флуоресценции синтезированного красителя, находящегося в составе гидрогеля, напрямую зависит от концентрации глюкозы, увеличение которой приводит к усилению флуоресценции. Синтезированный флуоресцентный гидрогель может найти применение при создании подкожного датчика глюкозы для НМГ в крови.

Библиографические ссылки

1. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 2001;414(6865):782–788. DOI: 10.1038/414782a.
2. Guerra SD, Lupi R, Marselli L, Masini M, Bugliani M, Sbrana S, et al. Functional and molecular defects of pancreatic islets in human type 2 diabetes. *Diabetes*. 2005;54(3):727–735. DOI: 10.2337/diabetes.54.3.727.
3. Koya D, King GL. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*. 1998;47(6):859–866. DOI: 10.2337/diabetes.47.6.859.
4. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414(6865):813–820. DOI: 10.1038/414813a.
5. Lee TH, Marcantonio ER, Mangione CM, Thomas EJ, Polanczyk CA, Cook EF, et al. Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of major noncardiac surgery. *Circulation*. 1999;100(10):1043–1049. DOI: 10.1161/01.cir.100.10.1043.
6. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, et al. Neurobiology of depression. *Neuron*. 2007;34(1):13–25. DOI: 10.1016/s0896-6273(02)00653-0.
7. Kondepoti VR, Heise HM. Recent progress in analytical instrumentation for glycemic control in diabetic and critically ill patients. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2007;388(3):545–563. DOI: 10.1007/s00216-007-1229-8.
8. Klonoff DC. Continuous glucose monitoring: roadmap for 21st century diabetes therapy. *Diabetes Care*. 2005;28(5):1231–1239. DOI: 10.2337/diacare.28.5.1231.
9. Shibata H, Heo YJ, Okitsu T, Matsunaga Y, Kawanishi T, Takeuchi S. Injectable hydrogel microbeads for fluorescence-based *in vivo* continuous glucose monitoring. *PNAS*. 2010;107(42):17894–17898. DOI: 10.1073/pnas.1006911107.
10. Zenkl G, Mayr T, Klimant I. Sugar-responsive fluorescent nanospheres. *Macromolecular Bioscience*. 2008;8(2):146–152. DOI: 10.1002/mabi.200700174.

11. Zenkl G, Klimant I. Fluorescent acrylamide nanoparticles for boronic acid based sugar sensing – from probes to sensors. *Microchimica Acta*. 2009;166(1–2):123–131. DOI: 10.1007/s00604-009-0172-0.
12. Rounds RM, Ibey BL, Beier HT, Pishko MV, Coté GL. Microporated PEG spheres for fluorescent analyte detection. *Journal of Fluorescence*. 2007;17(1):57–63. DOI: 10.1007/s10895-006-0143-3.
13. Russell RJ, Pishko MV, Gefrides CC, McShane MJ, Coté GL. A fluorescence-based glucose biosensor using concanavalin A and dextran encapsulated in a poly(ethylene glycol) hydrogel. *Analytical Chemistry*. 1999;71(15):3126–3132. DOI: 10.1021/ac990060r.
14. Turner RFB, Harrison DJ, Rajotte RV, Baltes HP. A biocompatible enzyme electrode for continuous *in vivo* glucose monitoring in whole blood. *Sensors and Actuators, B: Chemical*. 1990;1(1):561–564. DOI: 10.1016/0925-4005(90)80273-3.
15. Abel PU, von Woedtke T. Biosensors for *in vivo* glucose measurement: can we cross the experimental stage. *Biosensors and Bioelectronics*. 2002;17(11–12):1059–1070. DOI: 10.1016/s0956-5663(02)00099-4.
16. Kenausis G, Chen Q, Heller A. Electrochemical glucose and lactate sensors based on «wired» thermostable soybean peroxidase operating continuously and stably at 37 °C. *Analytical Chemistry*. 1997;69(6):1054–1060. DOI: 10.1021/ac961083y.
17. Wilson GS, Hu Y. Enzyme-based biosensors for *in vivo* measurements. *Chemical Reviews*. 2000;100(7):2693–2704. DOI: 10.1021/cr990003y.
18. Ballerstadt R, Evans C, McNichols R, Gowda A. Concanavalin A for *in vivo* glucose sensing: a biotoxicity review. *Biosensors and Bioelectronics*. 2006;22(2):275–284. DOI: 10.1016/j.bios.2006.01.008.

Получена 24.10.2024 / исправлена 12.12.2024 / принята 12.12.2024.
Received 24.10.2024 / revised 12.12.2024 / accepted 12.12.2024.