



## Fizjologiczne znaczenie siarkowodoru i sposoby jego detekcji w układach biologicznych

Daniel Słowiński | Politechnika Łódzka  
<https://orcid.org/0000-0003-1398-1525>

Radosław Podsiadły | Politechnika Łódzka  
<https://orcid.org/0000-0002-7822-8182>

### Streszczenie

**Słowa kluczowe:**  
siarkowódor,  
gazowa cząsteczka  
sygnałowa,  
donory H<sub>2</sub>S,  
detekcja, próbniiki  
fluorescencyjne

Siarkowódor (H<sub>2</sub>S) jest bezbarwnym gazem o nieprzyjemnym zapachu. Został uznany za trzecią obok tlenku azotu (NO) i tlenku węgla (CO) gazową cząsteczkę sygnalizacyjną. Dowiedziono, że H<sub>2</sub>S syntetyzowany jest enzymatycznie w komórkach ssaków z L-cysteiny. Do tych procesów niezbędne są enzymy: γ-liaza cystationiny (CSE), β-syntaza cystationiny (CBS) oraz siarkotransferaza 3-merkaptopirogronianowa (3-MST). Stężenie H<sub>2</sub>S we krwi u ssaków mieści się w przedziale 30–100 μM. W mózgu natomiast ilość tego transmitera może wynosić nawet 150 μM. Endogenny H<sub>2</sub>S, jako cząsteczka sygnałowa, moduluje ciśnienie krwi i aktywność neuronalną, rozluźnia mięśnie gładkie naczyń, hamuje sygnalizację insulinową oraz ma właściwości przeciwzapalne i antyapoptotyczne. Nieprawidłowe stężenie tego biotiolu w organizmie człowieka jest związane z różnymi chorobami, takimi jak choroby Alzheimera, zespół Downa czy przewlekła choroba nerek. Niemniej jednak biologiczne role H<sub>2</sub>S nadal pozostają w znacznej mierze nieznanne. Wykrywanie siarkowodoru w żywych komórkach to wciąż problem i duże wyzwanie. Opracowano wiele metod detekcji siarkowodoru z wykorzystaniem różnych technik: elektrochemicznych, spektroskopii absorpcyjnej UV-vis czy fluorescencyjnych. I właśnie metoda oparta na fluorescencji, wykorzystująca próbniiki fluorescencyjne, nabrała w ostatnich latach ogromnego znaczenia ze względu na wydajne wykrywanie H<sub>2</sub>S w czasie rzeczywistym. Wyróżnia się cztery główne strategie zastosowane do detekcji siarkowodoru: 1) redukcja azydów, 2) reakcje tiolizy, 3) reakcje wytrącania siarczku miedzi (II), 4) reakcje addycji.

### Physiological importance of hydrogen sulfide and methods of its detection in biological systems (Summary)

**Keywords:**  
hydrogen sulfide,  
gaseous signal  
molecule, H<sub>2</sub>S  
donors, detection,  
fluorescent probes

Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) is a gas with the characteristic smell of rotten eggs. It has been recognized as the third gaseous signaling molecule besides nitric oxide (NO) and carbon monoxide (CO). It has been proven that H<sub>2</sub>S is synthesized enzymatically in mammalian cells from L-cysteine. These processes require

the following enzymes: cystathionine  $\gamma$ -lyase (CSE), cystathionine  $\beta$ -synthase (CBS) and 3-mercaptopyruvate sulfur-transferase (3-MST). The concentration of  $H_2S$  in the blood of mammals is in the range of 30–100  $\mu M$ . In the brain, the concentration of this transmitter can be as high as 150  $\mu M$ . Endogenous  $H_2S$ , as a signal molecule, modulates blood pressure and neuronal activity, relaxes vascular smooth muscle, inhibits insulin signaling, and possesses anti-inflammatory and anti-apoptotic properties. The abnormal concentration of this biothiol in the human body is associated with various diseases, such as Alzheimer's disease, Down's syndrome and chronic kidney disease. Nonetheless, the biological roles of  $H_2S$  still remain largely unknown. The detection of  $H_2S$  in living cells is still a problem and a big challenge. Many methods for detecting hydrogen sulfide have been developed using various techniques, including electrochemical assay, absorption spectroscopy UV-vis and fluorescence assay. The fluorescence-based method using fluorescent probes has become of great importance in recent years due to the efficient detection of  $H_2S$  in real-time. Four main strategies used in probe development for  $H_2S$  detection include 1) azide reduction, 2) thiolysis reactions, 3) precipitation of copper sulfide (CuS), and 4) addition reactions.

## Podstawowe informacje o siarkowodorze

Siarkowódor ( $H_2S$ ) jest najprostszym związkiem siarki i wodoru. Ten bezbarwny, rozpuszczalny w wodzie palny gaz charakteryzuje się łatwo wyczuwalnym, nieprzyjemnym zapachem zgniłych jaj (Cao i in. 2019: 1–3). Związek ten zachowuje się jak słaby kwas ( $pK_a = 6,9$ ) i dysocjuje w środowisku wodnym dwustopniowo, dając jony  $H_3O^+$ ,  $HS^-$ , a w kolejnym etapie dodatkowo jony  $S^{2-}$ . W warunkach fizjologicznych, tj. w wodnych roztworach przy pH ok. 7,4, aż 1/3 siarkowodoru pozostaje niezdysoncjowana, a 2/3 dysocjuje przede wszystkim na jony  $HS^-$  i niewielką ilość  $S^{2-}$ . Aniony siarczkowe powstają dopiero przy wyższym pH, więc w konsekwencji w warunkach *in vivo* nie obserwuje się znacznych ilości tego jonu (Zivanovic i Filipovic 2016: 12–15).

Siarkowódor charakteryzuje się dosyć długim okresem półtrwania, rzędu kilku minut. Wchłania się do organizmu przez drogi oddechowe oraz w mniejszym stopniu przez skórę. Metabolizowany jest głównie w mitochondrium, gdzie następuje utlenianie siarkowodoru do tiosiarczanu, który już w tej postaci jest wydalany wraz z moczem. Rozkład siarkowodoru może również zachodzić w cytoplazmie, gdzie wskutek procesu metylacji, w obecności S-metylotransferazy tiolowej, powstaje siarczek dimetylu, który usuwany jest z organizmu (Łowicka i Bełtowski 2007: 4–24).

Efekty toksyczne siarkowodoru są uzależnione od stężenia i dotyczą układu nerwowego oraz krążeniowo-oddechowego. Osoby narażone na niewielkie dawki  $H_2S$  mogą odczuwać lekkie bóle głowy czy nudności. Po przekroczeniu najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) gaz ten działa drażniąco na spojówki oraz błony śluzowe. Wysokie stężenie siarkowodoru w powietrzu (powyżej 1000  $mg/m^3$ ) powoduje utratę przytomności, a po kilku minutach może doprowadzić do zgonu na skutek

uduszenia (Kotarba i in. 2017: 9–34). Do śmierci dochodzi poprzez blokowanie aktywności enzymów oddechowych, głównie oksydazy cytochromowej w mitochondriach oraz skutek uszkodzenia ośrodka oddechowego w mózgu. Zaburzone oddychanie komórkowe przyczynia się do nieprawidłowego rytmu pracy serca.  $H_2S$  nie ma powinowactwa do hemoglobiny tak jak tlenek węgla (CO), ale łączy się z methemoglobiną, co skutkuje powstawaniem sulfhemoglobiny. Taki proces doprowadza do niedoboru tlenu zarówno w tkankach, jak i komórkach. To co jest niebezpieczne podczas przebywania w miejscach narażonych na wdychanie siarkowodoru to tak zwane zjawisko zmęczenia węchu (ang. *olfactory fatigue*), czyli tymczasowa niezdolność do rozróżnienia zapachu  $H_2S$  po dłuższej ekspozycji. Próg wyczuwalności tego gazu jest niski i wynosi  $0,0007 \text{ mg/m}^3$ , a powyżej stężenia  $100 \text{ mg/m}^3$  odczuwanie może być nieadekwatne do jego realnego poziomu. Co więcej, szybko przyzwyczajamy się do jego zapachu, przez co zwiększa się nasza tolerancja na ten gaz. W związku z silnym działaniem neurotoksycznym podczas każdej pracy z siarkowodorem należy zwrócić szczególną uwagę na odpowiednią wentylację pomieszczeń oraz szczelność aparatury (Tadeusiewicz i Olas 2014: 125–135).

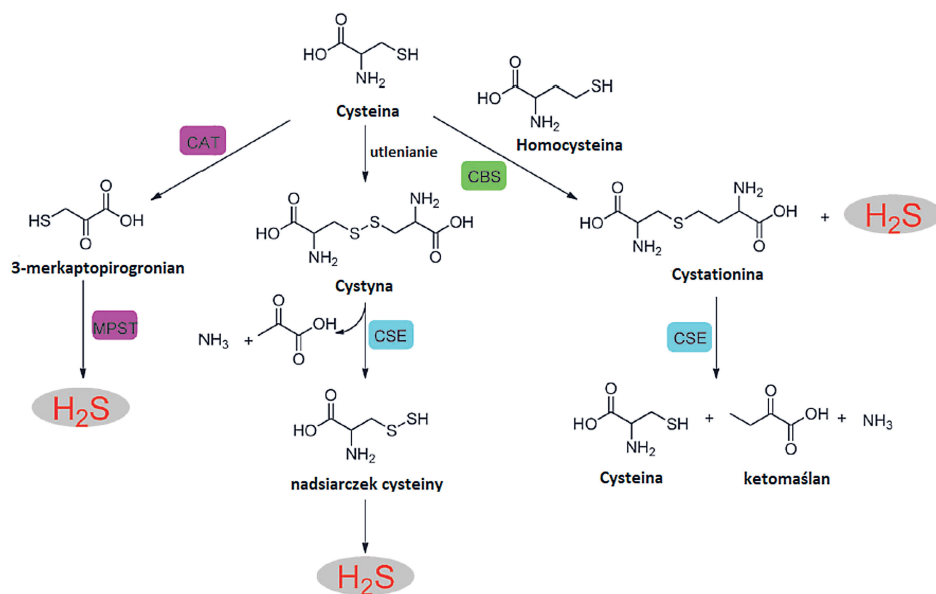
Należy jednak pamiętać, że siarkowodor powszechnie występuje w żywych organizmach. Obecność tego związku po raz pierwszy wykryto w mózgu w 1989 roku, a po kilku latach zasugerowano, że cząsteczka ta może być istotna dla człowieka, pełniąc funkcję przekaźnika nerwowego. W niskich stężeniach wywiera korzystny efekt na układ nerwowy, krążeniowy, pokarmowy (Zhang i in. 2017: 113–119).

## Enzymatyczne i nieenzymatyczne szlaki powstawania $H_2S$

Obecne badania wskazują, że  $H_2S$  wytwarzany jest w organizmach żywych szlakami enzymatycznymi i nieenzymatycznymi (rys. 1). Co najmniej trzy enzymy są odpowiedzialne za powstawanie siarkowodoru w komórkach ssaków, w tym dwa cytozolowe enzymy zależne od pirydoksalo-5-fosforanu (potocznie zwanego witaminą  $B_6$ ). Mowa tutaj o  $\beta$ -syntazie cystationinowej (CBS) oraz o  $\gamma$ -liazie cystationinowej (CSE). Trzecim enzymem biorącym udział w tworzeniu siarkowodoru jest transferaza siarkowa 3-merkaptopirogronianu (3-MST lub MPST). Wszystkie te biokatalizatory wykorzystują najprostszy aminokwas siarkowy: L-cysteinę jako substrat do wytwarzania  $H_2S$  (Xin i in. 2022: 121007).

CBS katalizuje reakcję wymiany, w której cysteina, reagując z seryną, wytwarza cystationinę i  $H_2S$ , a następnie enzym CSE rozszczepia wiązanie C-S w cystationinie, dostarczając cysteinę, amoniak oraz  $\alpha$ -ketomaślan jako produkty uboczne. Druga droga syntezy opiera się na utworzeniu cystyny, czyli aminokwasu, który jest dime-rem powstałym wskutek połączenia dwóch molekuł cysteiny mostkiem disiarczkowym. CSE w dalszym etapie przekształca nowo utworzony aminokwas w tiocysteinę oraz pirogronian. Szlak ten kończy się na rozkładzie tiocysteiny z uwolnieniem siarkowodoru. W ostatnim szlaku enzymatycznym L-cysteina musi najpierw zostać

przekształcona w 3-merkaptopirogronian (3MP) przez transferazę cysteinową (CAT) w obecności  $\alpha$ -ketoglutaranu, który jest akceptorem grupy aminowej. Następnie enzym 3-MST przenosi atom siarki z 3MP, co prowadzi do powstawania tiosiarczanu.  $H_2S$  jest uwalniany w obecności czynnika redukującego, takiego jak glutation. Warto nadmienić, że 3-MST działa wydajniej przy bardzo wysokim pH. W warunkach fizjologicznych udział tego enzymu w endogennej produkcji  $H_2S$  jest znikomy w porównaniu z CBS i CSE (Liu i in. 2016: 8108549).



Rysunek 1. Enzymatyczne szlaki powstawania  $H_2S$

Źródło: (Zhao, Biggs, Xian 2014: 11778–11805).

Oprócz szlaków syntezy enzymatycznej endogenna produkcja  $H_2S$  może również zachodzić w innych, mniej poznanych procesach nieenzymatycznych. Nieenzymatyczna produkcja  $H_2S$  odbywa się poprzez glukozę, glutation, nieorganiczne i organiczne polisulfidki oraz siarkę elementarną.  $H_2S$  może być generowany z glukozy poprzez glikolizę lub z fosfoglukonianu poprzez oksydazę NADPH. Glukoza reaguje z metioniną, homocysteiną lub cysteiną, tworząc gazowe związki siarki – metanotiol i siarkowodor.  $H_2S$  jest również produkowany poprzez bezpośrednią redukcję glutationu i siarki elementarnej. Redukcja siarki do  $H_2S$  odbywa się za pośrednictwem redukcji równoważników szlaku utleniania glukozy, takich jak NADH lub NADPH (Sun i in. 2021: 127–135).

## Rola siarkowodoru w organizmie człowieka

Prawidłowe stężenie siarkowodoru w organizmie różni się w zależności od analizowanej tkanki, układu i narządu. Z przeprowadzonych badań wynika, że najwyższe fizjologiczne stężenie wynosi ok. 150  $\mu\text{M}$  w miejscach jego wytwarzania, tj. w mózgu, nerkach, wątrobie. Natomiast w pozostałych miejscach oraz osoczu stężenie tego gazu powinno być niższe i oscylować w granicach 50  $\mu\text{M}$ . Wiedza na temat biologicznej roli endogennego  $\text{H}_2\text{S}$  stale się poszerza. Wiele doniesień literaturowych wskazuje, że  $\text{H}_2\text{S}$  wywołuje efekty fizjologiczne w szerokim zakresie stężeń od 10 do 300  $\mu\text{M}$  (Brodek i Olas 2016: 820–829). Obok tlenku węgla (II) (CO) oraz tlenku azotu (II) (NO) siarkowodor należy do gazotransmiterów, czyli cząsteczek, które dzięki właściwościom lipofilowym potrafią dyfundować przez błony komórkowe bez dodatkowych transporterów. Oznacza to, że molekuła ta reguluje szereg procesów biochemicznych zachodzących w komórkach (Ou i in. 2021: 118886).

Liczne badania przeprowadzone *in vivo* oraz *in vitro* dowodzą, że siarkowodor w stężeniu fizjologicznym reguluje funkcje układu krążenia. Odgrywa on ważną rolę w homeostatycznej regulacji ciśnienia krwi. Siarkowodor powoduje bezpośrednie otwieranie kanałów potasowych wrażliwych na adenozynotrifosforan (ATP), polepszając przy tym przepływ jonów, co skutkuje rozszerzeniem naczyń krwionośnych oraz obniżeniem ciśnienia krwi (Zhao i in. 2021: 627336). Dzięki temu  $\text{H}_2\text{S}$  jako modulator chroni organizm przed zwiększoną częstotliwością skurczy mięśni gładkich oraz zapobiega nadciśnieniu tętniczemu. Należy jednak pamiętać, że właściwości naczyniorozszerzające zależne są nie tylko od samego stężenia siarkowodoru, ale także od ilości obecnego w komórkach tlenku azotu (NO), który usprawnia syntezę  $\gamma$ -liazy cystationiny, a więc i produkcję  $\text{H}_2\text{S}$  (Szłęczak i in. 2022: 130–138).

Siarkowodor ma również zdolność do hamowania aktywności nadtlendioazotynu ( $\text{ONOO}^-$ ), cząsteczki, która powstaje w komórkach w wyniku reakcji tlenku azotu z anionorodnikiem ponadtlenkowym. Nadtlendioazotyn powoduje utlenianie tioli, zaburza proces transportu elektronów w mitochondriach. W chorobach neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Alzheimera czy Parkinsona, obserwuje się zwiększoną aktywność tej reaktywnej formy azotu. Nitruje grupy fenolowe zawarte w cząsteczkach tyrozyny i tryptofanu (Reynolds, Berry, Binder 2005: 1690–1700). Siarkowodor w znaczący sposób hamuje oddziaływanie  $\text{ONOO}^-$  z tyrozyną, nie dopuszczając przy tym do powstawania nitrowych produktów. Dodatkowo  $\text{H}_2\text{S}$  wykazuje zdolność do inhibicji innych reaktywnych form tlenu, azotu czy chloru (m.in. nadtlenu wodoru czy HOCl) (Xiao i in. 2018: e13065).

Badania na organizmach modelowych wskazują, że suplementacja siarkowodorem może prowadzić do stanu głębokiego hipometabolizmu, czyli stanu zbliżonego do hibernacji. Po kilku godzinach przebywania w umiarkowanym stężeniu siarkowodoru (około 80 ppm) zaobserwowano u ssaków ogólny spadek metabolizmu oraz spadek temperatury ciała do około 15°C. Po usunięciu  $\text{H}_2\text{S}$  ze środowiska stan badanych

zwierząt wracał do normy bez zaobserwowania żadnych zmian w zachowaniu czy funkcjonowaniu. Sztuczne indukowanie stanu hibernacji może znaleźć wiele zastosowań, między innymi w celu regulowania hipotermii czy w celu regulowania niewydolności narządowej (Jensen i Fago 2021: 215764).

Aktywność enzymów wytwarzających siarkowodor jest widoczna także w nerkach.  $H_2S$  pełni kilka ważnych funkcji biologicznych w tym narządzie: działa jako przeciwutleniacz, ma właściwości cytoprotekcyjne, stymuluje procesy filtracyjne, aktywuje wydalanie sodu i potasu z moczem oraz redukuje aktywność układu hormonalno-enzymatycznego: renina-angiotensyna-aldosteron (RAA), który przyczynia się do powstawania patologicznych zmian w nerkach. Przewlekła choroba nerek wiąże się z zaburzeniami metabolizmu siarkowodoru. Aktywność enzymów wytwarzających  $H_2S$  przy tym schorzeniu zmniejsza się nawet o ok. 35%, a szybkość wykorzystania egzogennej  $H_2S$  w nerkach może wzrosnąć nawet o 34% w porównaniu z grupą kontrolną. Postępująca utrata czynności nerek, w tym zaburzenia kanalikowe i kłębuszkowe, są ściśle skorelowane z zawartością  $H_2S$  w nerkach (Koniukh i in. 2020: 289–297). Doniesienia literaturowe wskazują także, że siarkowodor, jak i jego prekursor – L-cysteina wpływają korzystnie na układ pokarmowy. Są one ważnym czynnikiem gastroprotekcyjnym. Ochroniają błonę śluzową żołądka, wykazując mechanizmy obronne i zapewniają integralność tych błon (Shen i in. 2019: 88–92).

Jak wcześniej wspomniano, obecność  $H_2S$  skutkuje aktywacją kanałów potasowych ( $K_{ATP}$ ) w komórkach mięśni gładkich. Okazało się także, że wpływa on dodatkowo na inne typy komórek, które mają funkcjonalne kanały  $K_{ATP}$ , na przykład komórki  $\beta$  trzustki. W zależności od stężenia siarkowodor może wykazywać cytoochronną bądź cytotoksyczną rolę w komórkach  $\beta$  trzustki podczas rozwoju cukrzycy (Chen i in. 2021: 704620). We wczesnym etapie tej choroby nadekspresja enzymu CSE w trzustce wywołana wysokim poziomem glukozy może służyć jako mechanizm ochronny, ponieważ może neutralizować stres oksydacyjny/nitrozowy oraz atak autoimmunologiczny. Jednak powstający produkt uboczny tego procesu,  $H_2S$ , prowadzi do zahamowania wytwarzania insuliny poprzez aktywację kanałów potasowych, co skutkuje wzrostem krążącej glukozy. Spekuluje się, że w miarę nasilania tego cyklu lokalne poziomy  $H_2S$  mogą osiągnąć stężenie progowe, przy którym może zostać wywołana odpowiedź cytotoksyczna. Ostatecznie powyższe procesy będą prowadziły do postępującej destrukcji (apoptozy) komórek  $\beta$ , prowadzącej do hiperglikemii (Szabo 2012: 68–80).

## Metody detekcji $H_2S$ w układach biologicznych

W ciągu ostatnich kilku lat opracowano wiele metod wykrywania  $H_2S$ , od podstawowych do bardziej złożonych analitycznie technik, takich jak: wysokociśnieniowa chromatografia cieczowa (HPLC), spektrofotometria, chromatografia gazowa (GC), oznaczenia elektrochemiczne i metody polarograficzne, techniki fluorescencyjne

oraz sposoby wykorzystujące nanocząstki, które wykrywają formy siarczków z różnych niebiologicznych i biologicznych źródeł. Każda z powyższych metod ma liczne wady i pewne ograniczenia (Liu i in. 2022: 101–105).

Wykrywanie kolorymetryczne błękitu metylenowego (MB), często określanego jako metoda „pułapki cynkowej”, jest jedną z najczęściej stosowanych technik wykrywania  $H_2S$ . Ten test polega na wytworzeniu błękitu metylenowego w wyniku reakcji N,N-dimetylo-fenylendiaminy (DMPD) w kwaśnym środowisku z jonami siarczkowymi zawartymi w próbce w obecności octanu cynku, a następnie zmierzeniu absorpcji za pomocą spektrofotometru przy długości fali 670 nm. Metoda ta początkowo miała na celu przede wszystkim pomiar poziomów siarczków w próbkach wodnych. Na przestrzeni lat wprowadzono wiele modyfikacji w celu analizowania próbek niebiologicznych. Istnieje kilka problemów związanych z tą metodą, m.in. interferencja z substancjami barwnymi powstałymi w wyniku reakcji siarczku z siarczanem N,N-dimetylo-p-fenylendiaminy w obecności utleniających jonów  $Fe^{3+}$ , oznaczanie w silnie kwaśnym środowisku prowadzi do uwolnienia  $H_2S$  z innych form siarczków, które mogą przyczyniać się do błędnych pomiarów, brak wyraźnego pasma absorpcji przy 670 nm dla fizjologicznych stężeń (Kolluru i in. 2013: 5–20).

Elektrody jonoselektywne specyficzne dla siarczków (ISE) są również używane do wykrywania poziomów  $H_2S$  w próbkach biologicznych, z zakresem wykrywania od 1 do 10  $\mu M$ . Choć ta metoda jest łatwo dostępna i prosta w obsłudze, również ma swoje wady w wykrywaniu biologicznego stężenia  $H_2S$ . ISE mierzą formę  $S^{2-}$ , która wymaga środowiska alkalicznego, aby sprzyjać równowadze, co może przyczyniać się do błędnych odczytów (Brown, Hall, Schoenfisch 2019: 67–76).

Aby wykrywać  $H_2S$  w złożonych układach biologicznych z większą czułością i łatwością, stosuje się obecnie próbniki fluorescencyjne. Jest to jedno z najbardziej wydajnych narzędzi wykrywania ze względu na niski koszt, wysoką kompatybilność, selektywność oraz możliwość detekcji w czasie rzeczywistym. Ogólnie rzecz biorąc, małowcząsteczkowe próbniki fluorescencyjne składają się z fluoroforu, łącznika i grupy reaktywnej wrażliwej na siarkowodor. Istnieją dwa typy próbników: opierające się na pojawieniu się sygnału fluorescencyjnego (*turn on*) oraz bazujące na zaniku fluorescencji (*turn off*). Grupa reaktywna w cząsteczce sondy stosowana jest jako akceptor elektronów w celu wygaszenia fluoroforu. Pewne ograniczenia, takie jak niska wydajność kwantowa, słaba fotostabilność, rozpuszczalność w wodzie czy niezadawalająca czułość wykrywania w warunkach biologicznych, powodują, że większość barwników nie nadaje się do projektowania wrażliwych sond na  $H_2S$ . Do opracowania próbników stosowanych do detekcji siarkowodoru najczęściej wybieranymi fluoroforami są barwniki cyjaninowe, BODIPY, ksanteny oraz pochodne na bazie kumaryny (rys. 2) (Jose i in. 2020: 3365–3391).

Barwniki cyjaninowe są często stosowane jako fluorofory ze względu na ich stosunkowo niską masę cząsteczkową, wysokie wydajności kwantowe czy wysokie

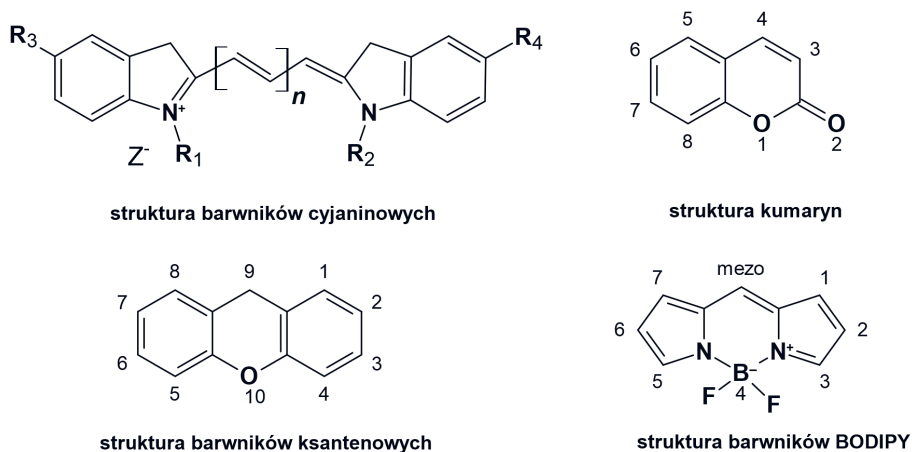
współczynniki ekstynkcji molowej. Związki te składają się z dwóch heterocykli zawierających azot, z których jeden jest naładowany dodatnio i przyłączony jest do drugiego fragmentu cząsteczki poprzez sprzężony łańcuch o nieparzystej liczbie atomów węgla. Większość barwników cyjaninowych ma dwie struktury mezomeryczne, które odpowiadają za intensywność koloru. W zależności od liczby grup metinowych ( $-CH=$ ), dzielą się one na barwniki cyjaninowe monometyny (Cy1), barwniki cyjaninowe trimetyny (Cy3), barwniki cyjaniny pentametyny (Cy5) lub barwniki cyjaniny heptametyny (Cy7). Maksima absorpcji i emisji Cy5 i Cy7 znajdują się w zakresie bliskiej podczerwieni (NIR) i są wykorzystywane w rozwoju próbników do wykrywania  $H_2S$  (Jose i in. 2020: 3365–3391).

Pochodne kumaryny (benzo- $\alpha$ -pironu) posiadają bardzo interesujące właściwości spektroskopowe, mianowicie posiadają zdolność do emisji fluorescencji w zakresie od ultrafioletu do zakresu widzialnego na skutek wzbudzenia cząsteczki na wyższy poziom energetyczny. Dodatkowo charakteryzują się dużymi współczynnikami ekstynkcji molowej i dobrymi wydajnościami kwantowymi. Podstawienie pierścienia laktonowego w kumarynie różnymi ugrupowaniami wpływa w znaczący sposób na zmiany jej właściwości spektroskopowych. Wprowadzenie grupy elektronodonorowej w pozycji czwartej (C-4), szóstej (C-6) lub siódmej (C-7) lub grupy elektronoakceptorowej w pozycji trzeciej (C-3) powoduje przesunięcie pasma emisji w kierunku dłuższych fal w stosunku do układu niepodstawionego benzo- $\alpha$ -pironu (Niu i in. 2016: 498–504).

Barwniki ksantenowe zawierają w swojej strukturze rdzeń ksantenowy jako chromofor wraz z grupami aminowymi lub hydroksylowymi zlokalizowanymi w pozycji meta względem tlenu. Barwniki te posiadają znakomite właściwości spektroskopowe i fotofizyczne. Charakteryzują się wysokimi wydajnościami kwantowymi, wąskimi pasmami emisji, wysokimi molowymi współczynnikami absorpcji oraz są bardzo dobrze rozpuszczalne w środowisku wodnym. Fluoron, fluoresceina czy rodamina to tylko niektóre dobrze znane przykłady tych barwników (Ma i in. 2017: 20160024).

Barwniki BODIPY są z powodzeniem wykorzystywane do opracowania funkcjonalnych próbników fluorescencyjnych ze względu na stosunkowo wysoką fotostabilność, neutralny ładunek całkowity, wysoką wydajność kwantową fluorescencji. Wprowadzenie podstawników w pozycji *mezo* lub w pozycji czwartej nie wpływa znacząco na właściwości absorpcyjne i emisyjne cząsteczki. Jednak obecność ugrupowań w pozycji 2/6 lub 3/5 powoduje, że barwniki emitują w obszarze bliskiej podczerwieni NIR. Grupy hydrofilowe, takie jak sulfonowe, hydroksylowe, karboksylowe, obecne w pozycji 2 lub 6, polepszają rozpuszczalność w wodzie, co korzystnie wpływa na ich właściwości aplikacyjne w układach komórkowych (Ni i Wu 2014: 3774–3791).





**Rysunek 2. Wybrane struktury barwników fluorescencyjnych wykorzystywanych do opracowywania próbników fluorescencyjnych**

Źródło: Opracowanie własne.

Detekcja  $H_2S$  przy użyciu próbników fluorescencyjnych opiera się na różnych mechanizmach odpowiedzi fluorescencyjnej, w tym procesy oparte na: 1) redukcji elektronowych grup (azydkowej, nitrowej, hydroksyaminowej) do odpowiednich amin, 2) rozerwaniu wiązań eterowych, estrowych, sulfoestrowych, 3) wytrącaniu siarczków jonami miedzi, 4) reakcjach addycji (Słowiński i in. 2021: 109765). Już od ponad 10 lat grupa azydkowa ( $-N_3$ ) jest najszerzej stosowaną funkcyjną grupą do projektowania próbników wykrywających  $H_2S$ . Wykorzystywane w tym procesie właściwości siarkowodoru redukują tę wyciągającą elektrony grupę do grupy aminowej ( $-NH_2$ ), uzyskując w ten sposób związki o odmiennych właściwościach spektralnych (rys. 3) (Zhou i in. 2022: 34–63).

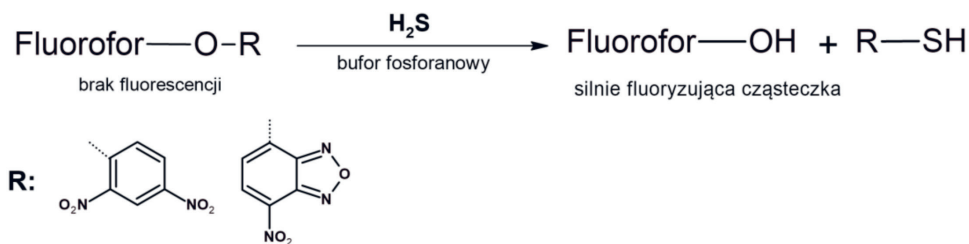


**Rysunek 3. Ogólny schemat reakcji redukcji próbnika zawierającego grupę  $-N_3$  w obecności  $H_2S$**

Źródło: Opracowanie własne.

Oprócz właściwości redukcyjnych sam  $H_2S$  posiada charakter nukleofilowy, znacznie silniejszy niż inne tiole, co wynika z jego mniejszego rozmiaru cząsteczkowego i niższego pKa. Takie właściwości zapewniają możliwość projektowania sond fluorescencyjnych na podstawie specyficznej reakcji między próbnikiem a  $H_2S$ . W zależności

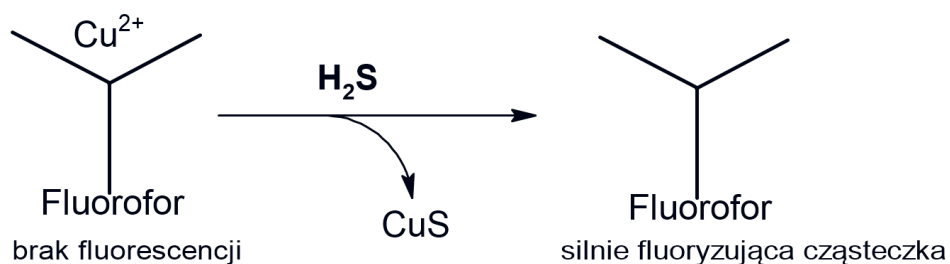
od lokalizacji części elektrofilowej w cząsteczce grupa tiolowa może ulegać reakcji addycji Michaela bądź spontanicznej cyklizacji, co w obu przypadkach prowadzi do zwiększenia intensywności fluorescencji. Dodatkowo siarkowodor może przyczyniać się do zerwania układu sprzężonego występującego w sondach, powodując zmianę długości fali emisyjnej. Kolejnym sposobem otrzymania próbników typu *turn on* może być usunięcie grupy elektroakceptorowej, co prowadzi do odtworzenia fluoroforu (rys. 4) (Yu, Han, Chen 2014: 12234).



**Rysunek 4. Przykład reakcji tiolizy próbnika w obecności H<sub>2</sub>S**

Źródło: Opracowanie własne.

Wytrącanie siarczku miedzi (II) (CuS) jest klasyczną metodą jakościową wykrywania siarczków. Ten sposób został z powodzeniem zaadaptowany do wykrywania H<sub>2</sub>S. Organiczne związki chelatowe nie wykazują fluorescencji. Dzieje się to za sprawą obecnej miedzi, której właściwości paramagnetyczne sprawiają, że wykazuje ona zdolność do przyjmowania elektronów fluoroforu. Po usunięciu jonów Cu<sup>2+</sup> ze związku kompleksowego obserwowane jest zjawisko fluorescencji i na drodze reakcji uwalniany jest siarczek miedzi (rys. 5). Jony siarczkowe S<sup>2-</sup> mają silne powinowactwo do jonów miedzi i na tej podstawie obecność H<sub>2</sub>S w medium zawierającym roztwór próbnika przyczyni się do wyeliminowania miedzi z kompleksu, a tym samym do uzyskania zjawiska fluorescencji (Palanisamy i in. 2016: 445–447).



**Rysunek 5. Ogólny schemat reakcji próbnika metalokompleksowego z H<sub>2</sub>S**

Źródło: Opracowanie własne.

## Sposoby generowania H<sub>2</sub>S w eksperymentach chemicznych

Do oceny skuteczności próbników fluorescencyjnych jako narzędzia do detekcji siarkowodoru wykorzystuje się różnorakie jego źródła, powszechnie nazywanymi donorami H<sub>2</sub>S. Najpopularniejszym sposobem generowania H<sub>2</sub>S do eksperymentów chemicznych jest użycie nieorganicznych soli sodowych, takich jak siarczek sodu (Na<sub>2</sub>S) i wodorosiarczek sodu (NaHS). Stosowanie tych soli jest szeroko rozpowszechnione w literaturze i niewątpliwie znacznie przyczyniło się do zrozumienia złożonych skutków biologicznych H<sub>2</sub>S. Najczęściej stosuje się wodne roztwory hydratów NaHS×H<sub>2</sub>O lub Na<sub>2</sub>S×9H<sub>2</sub>O. Sole te szybko wytwarzają H<sub>2</sub>S (gwałtownie dysocjują z wytworzeniem siarkowodoru w sposób natychmiastowy i zależny od pH). Oznacza to, że bardzo szybko zostanie wygenerowane „szczytowe” stężenie H<sub>2</sub>S, które po chwili gwałtownie spadnie z powodu szybkiego ulatniania się tego gazu w warunkach laboratoryjnych. W związku z powyższym roztwory podstawowe tych soli należy zawsze przygotowywać na świeżo i używać natychmiast po sporządzeniu (Kashfi i Esmaili 2017: 105–142).

Okres półtrwania H<sub>2</sub>S generowanego z siarczków wynosi od 5 do 30 minut, w zależności m.in. od temperatury czy jakości wody użytej do eksperymentów (zawartość metali w wodzie istotnie wpływa na końcowe stężenie siarkowodoru). Inny problem pojawiający się w przypadku soli siarczkowych dotyczy często nieznanego stopnia czystości. Żółte zabarwienie jest wymowną oznaką zanieczyszczeń. Niektóre z nich, np. siarczany, mogą być biologicznie nieaktywne, podczas gdy inne, np. tiosiarczany czy polisulfidy, mają swoje własne, odrębne działanie biologiczne. Fakt, że sole siarczków są higroskopijne, wprowadza dodatkowe źródło błędów przy próbie obliczenia dokładnego stężenia lub dawki H<sub>2</sub>S, które należy zastosować do układu biologicznego lub w badaniach eksperymentalnych (Szabo i Papapetropoulos 2017: 597–564).

Kilka lat temu zaobserwowano, że tetratiomolibdenian amonu (TTM, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>MoS<sub>4</sub>), związek klinicznie stosowany w leczeniu zatruc miedzią, działa jak rozpuszczalnik w wodzie donor H<sub>2</sub>S, który prawdopodobnie uwalnia go poprzez prosty proces hydrolityczny, aczkolwiek ze stosunkowo długim, bo godzinnym okresem półtrwania. W kwaśnych środowiskach odnotowano większe ilości powstającego siarkowodoru. Dodatkowo TTM ma wiele różnych efektów biologicznych, w tym hamowanie proliferacji komórek nowotworowych. Wpływ ugrupowania molibdenianowego na uwalnianie H<sub>2</sub>S nadal nie został dokładnie przebadany (Xu i inni 2016: 1585–1588).

Chociaż wspomniane wcześniej nieorganiczne sole siarczkowe są nadal wykorzystywane w niektórych badaniach chemicznych, to nie stanowią one już optymalnego punktu wyjścia dla analiz farmakologicznych oraz biologicznych, ze względu na przytoczony już powyżej problem krótkiego czasu półtrwania, niekontrolowanego uwalniania siarkowodoru oraz nieprzyjemnego zapachu. Obecnie poszukuje się innych związków, które potencjalnie mogłyby być wykorzystywane jako nowe donory H<sub>2</sub>S. Idealnie byłoby, aby rozważana cząsteczka charakteryzowała się następującymi

właściwościami: 1) sam donor, jak i produkty uboczne powstające podczas reakcji nie mogą być toksyczne dla komórek, 2) dokładnie zbadany lub łatwo dostrajany profil uwalniania  $H_2S$ , który powinien być zdecydowanie wolniejszy niż w przypadku  $Na_2S/NaHS$ , 3) była dobrze rozpuszczalną cząsteczką w środowisku wodnym, 4) charakteryzowała się wysoką czystością oraz jak najwyższą stabilnością w różnych warunkach (Szabo i Papapetropoulos 2017: 597–564).

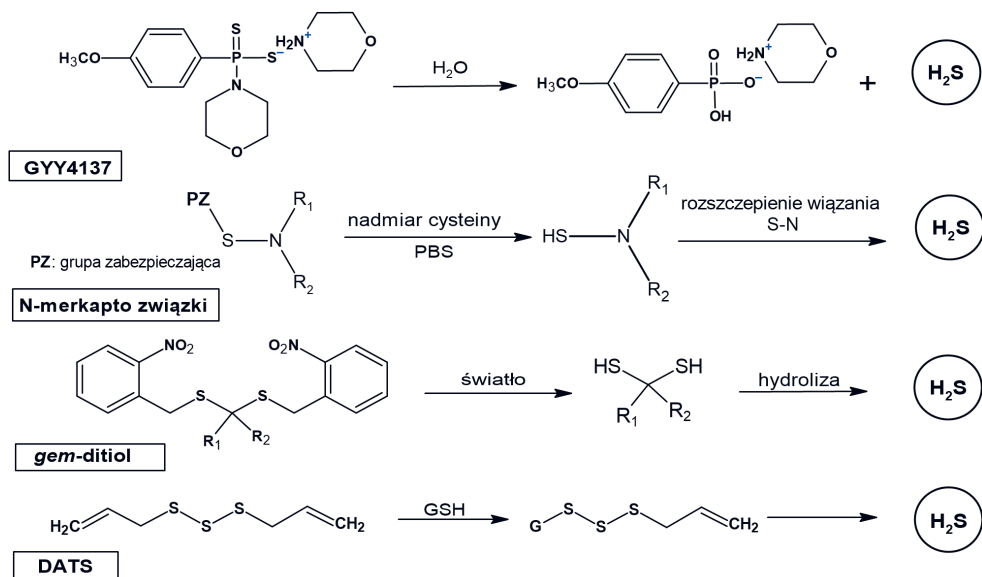
GY4137 jest pierwszym organicznym związkiem zgłoszonym i scharakteryzowanym jako wolno uwalniająca siarkowódor cząsteczka o względnie małej masie cząsteczkowej. Jest pochodną odczynnika Lawesson, która w swojej strukturze zawiera dodatkowo ugrupowanie morfoliny (rys. 6). Związek ten bardzo dobrze rozpuszcza się w wodzie ( $> 1$  mg/ml przy  $pH = 7,4$ ), uwalniając w wyniku hydrolizy siarkowódor (Powell, Dillon, Matson 2018: 110–123). Generowanie  $H_2S$  *in vitro* potwierdzono testami kolorymetrycznymi i amperometrycznymi. W porównaniu z solami siarczkowymi uwalnianie  $H_2S$  z GY4137 było znacznie wolniejsze, a stężenie tego gazu osiągało maksymalną wartość w ciągu 6–10 minut, ale na bardzo niskim poziomie. Według przeprowadzanych badań 1 mM GY4137 uwalnia 40  $\mu M$   $H_2S$  w ciągu pierwszych 10 minut, a kolejne 50  $\mu M$  w ciągu kolejnych 90 minut w kwaśnym roztworze wodnym o  $pH$  3,0. Uwalnianie siarkowodoru z GY4137 jest zależne od  $pH$  i temperatury, z większym powinowactwem do kwaśnego  $pH$  i wyższej temperatury. W warunkach fizjologicznych ( $pH = 7,4$ ) produkcja  $H_2S$  z tego związku utrzymywała się na niskim poziomie (poniżej 10%) nawet po 7 dniach (Lee i in. 2011: e21077).

W ostatnim czasie zgłoszono po raz pierwszy donory  $H_2S$  aktywowane przez konkretne biotiole. Takie związki miały w kontrolowany sposób generować siarkowódor, jak również miały być stabilne po rozpuszczeniu w roztworach wodnych. Związki te były pochodnymi tiolowymi (R–N–SH). Zauważono, że S–N wiązania są niestabilne i łatwe do zerwania w określonych warunkach, wobec czego wprowadzono dodatkowo resztę acylową zabezpieczającą grupę tiolową (–SH) w celu zwiększenia stabilności. Zabezpieczone związki okazały się stabilne w roztworach wodnych. Nie reagowały z potencjalnymi nukleofilami komórkowymi, takimi jak grupy –OH i –NH<sub>2</sub>. W obecności cysteiny lub glutationu zaobserwowano rozkład donorów w czasie, któremu towarzyszyło uwalnianie  $H_2S$ . Badania zależności między strukturą a aktywnością wykazały, że grupy elektronoakceptorowe (EWG) prowadziły do szybszego uwalniania  $H_2S$ , a grupy elektronodonorowe (EDG) skutkowały wolniejszym uwalnianiem siarkowodoru, wykazując w ten sposób osiągnięcie regulacji generowania tego gazu poprzez modyfikacje strukturalne. Badania mechanizmu reakcji dowiodły, że powstawanie  $H_2S$  jest inicjowane przez wymianę tiolową między cysteiną a donorem w celu wytworzenia S-acylowanej cysteiny, która ulega dalszym reakcjom z uwolnieniem siarkowodoru (Zhao, Wang, Xian 2011: 15–17).

W celu opracowania donorów  $H_2S$  niezależnych od tioli, a wrażliwych na światło wykorzystano układ *gem*-ditiolowy. Aby uzyskać stabilne donory oparte na *gem*-ditiolu, wprowadzono fotorozszczepialną grupę 2-nitrobenzylową jako grupę

zabezpieczającą –SH. Po napromieniowaniu tych związków światłem powstają pośrednie produkty, które w wyniku hydrolizy uwalniają siarkowodor (rys. 6). Testy wykazały, że po naświetleniu odpowiedniego donora o stężeniu 200 mM światłem o długości fali 365 nm uzyskano ok. 36 mM H<sub>2</sub>S. Dla porównania nie wykryto żadnych ilości tego gazu, gdy próbka nie była wystawiona na działanie światła, co świadczy o wysokiej stabilności tych związków w roztworach wodnych (Zhao i in. 2014: 4536–4539).

Oprócz syntetycznych donorów H<sub>2</sub>S istnieją jego naturalne odpowiedniki, które obficie występują w niektórych warzywach, np. w czosnku pospolitym. Jak wiadomo, roślina ta wykazuje wiele leczniczych właściwości, takich jak: działanie antybakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe. Swoje prozdrowotne funkcje zawdzięcza licznej obecności związków zawierających siarkę. Mowa tutaj o allinie, allicyynie oraz trisiarczku diallilu (DATS). Okazuje się, że wszystkie te wymienione cząsteczki są jednocześnie substratami do wytwarzania H<sub>2</sub>S. Największe znaczenie jako donor ma DATS, ze względu na generowanie dużych stężeń siarkowodoru. Uwalnianie H<sub>2</sub>S z DATS zależy od jego reakcji z glutationem (GSH). Nukleofilowy atak GSH na centralny atom siarki w cząsteczce DATS może prowadzić do produkcji GSSA z uwolnieniem H<sub>2</sub>S (rys. 6) (Corvino i in. 2021: 429).



Rysunek 6. Organiczne donory H<sub>2</sub>S i ich mechanizmy generowania siarkowodoru

Źródło: Opracowanie własne.

## Podsumowanie

Przez długi czas siarkowodor był wyłączenie za silnie toksyczny związek, negatywnie oddziałujący na organizmy żywe. Badania ostatnich lat wykazały korzystny wpływ H<sub>2</sub>S w stężeniach fizjologicznych na funkcjonowanie zarówno zwierząt, jak i roślin. Potwierdzono także, że siarkowodor jest cząsteczką sygnałową, podobną do dwóch znanych gazowych transmiterów – tlenu azotu i tlenu węgla. Z tego też powodu tak ważne jest monitorowanie poziomu tej cząsteczki w komórkach. Jednak ocena ilościowa tego gazu to wciąż duże wyzwanie i przedmiot licznych badań. Obecne metody detekcji H<sub>2</sub>S nie są w pełni zadawalające, charakteryzują się licznymi ograniczeniami. Obiecujące są techniki wykorzystujące spektroskopię fluorescencyjną ze względu na wysoką nieinwazyjność i czułość metody oraz możliwość detekcji siarkowodoru zarówno w próbkach biologicznych, jak i niebiologicznych.

## Bibliografia

- Brodek P., Olas B., 2016, *Biochemistry and therapeutic potential of hydrogen sulfide – reality or fantasy?*, „Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej”, nr 70.
- Brown M., Hall J., Schoenfish M., 2019, *A direct and selective electrochemical hydrogen sulfide sensor*, „Analytica Chimica Acta”, Vol. 1045.
- Cao X., Ding L., Xie Z., Yang Y., Whiteman M., Moore P., Bian J., 2019, *A review of hydrogen sulfide synthesis, metabolism, and measurement: is modulation of hydrogen sulfide a novel therapeutic for cancer?*, „Antioxidants & Redox Signaling”, Vol. 31.
- Chen H., Ngowi E., Qian L., Li T., Qin Y., Zhou J., Li K., Ji X., Wu D., 2021, *Role of hydrogen sulfide in the endocrine system*, „Frontiers in Endocrinology”, Vol. 12.
- Corvino A., Frecentese F., Magli E., Perissutti E., Santagada V., Scognamiglio A., Caliendo G., Fiorino F., Severino B., 2021, *Trends in H<sub>2</sub>S-donors chemistry and their effects in cardiovascular diseases*, „Antioxidants”, Vol. 429, No. 10.
- Jose D., Sakla R., Sharma N., Gadiyaram S., Kaushik R., Ghosh A., 2020, *Sensing and bioimaging of the gaseous signaling molecule hydrogen sulfide by near-infrared fluorescent probes*, „ACS Sensors”, Vol. 5.
- Jensen B., Fago A., 2021, *Sulfide metabolism and the mechanism of torpor*, „Journal of Experimental Biology”, Vol. 224, No. 17.
- Kashfi K., Esmaili M., 2017, *NO-H<sub>2</sub>S-releasing chimeras as a multifaceted approach to Cancer therapy*, „Nitric Oxide as a Chemosensitizing Agent”, Vol. 1.
- Kolluru G., Shen X., Bir S., Keil C., 2013, *Hydrogen sulfide chemical biology: pathophysiological roles and detection*, „Nitric Oxide”, Vol. 35.
- Koniukh S., Voloshchuk N., Melnyk A., Domin I., 2020, *Hydrogen sulfide metabolism and its role in kidney function in a rat model of chronic kidney disease*, „Health Problems of Civilization”, Vol. 14, No. 4.
- Lee Z., Zhou J., Chen C., Zhao Y., Tan C., Li L., Moore P., Den L., 2011, *The slow-releasing hydrogen sulfide donor, GYY4137, exhibits novel anti-cancer effects in vitro and in vivo*, „Plos One”, Vol. 6.
- Liu M., Wu L., Montaut S., Yang G., 2016, *Hydrogen sulfide signaling axis as a target for prostate cancer therapeutics*, „Prostate Cancer”, February.

- Liu W., Bu D., Zhang H., Zhang M., Ren H., Li Z., Yu M., 2022, *A mitochondrial and lysosomal targeted ratiometric probe for detecting intracellular H<sub>2</sub>S*, „Analytical Methods”, Vol. 14.
- Łowicka E, Bełtowski J., 2007, *Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) – the third gas of interest for pharmacologists*, „Pharmacological Reports”, Vol. 59.
- Ma S., Wang Y., She M., Wang S., Yang Z., Liu P., Zhang S., Li J., 2107, *Design strategies and progress on xanthenebased fluorescent probe for metal ions*, „Reviews in Analytical Chemistry”, Vol. 36, No. 2.
- Ni Y., Wu J., 2014, *Far-red and near infrared BODIPY dyes: synthesis and applications for fluorescent pH probes and bio-imaging*, „Organic and Biomolecular Chemistry”, Vol. 12.
- Niu G., Liu W., Xiao H., Zhang H., Chen J., Dai Q., Ge J., Wu J., Wang P., 2016, *Keto-benzo[h]-coumarin-based near-infrared dyes with large stokes shifts for bioimaging applications*, „Chemistry: An Asian Journal”, Vol. 11.
- Ou P., Wang Y., Hao C., Peng Y., Zhou L., 2021, *Naphthalimide-based a highly selective two-photon fluorescent probe for imaging of hydrogen sulfide in living cells and inflamed tissue of mouse model*, „Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy”, Vol. 245.
- Palanisamy S., Lee L., Wang Y., Chen Y., Chen C., Wang Y., 2016, *A water soluble and fast response fluorescent turn-on copper complex probe for H<sub>2</sub>S detection in zebra fish*, „Talanta”, Vol. 147.
- Powell C., Dillon K., Matson J., 2018, *A review of hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) donors: chemistry and potential therapeutic applications*, „Biochemical Pharmacology”, Vol. 149.
- Reynolds M., Berry R., Binder L., 2005, *Site-Specific Nitration and Oxidative Dityrosine Bridging of the tau Protein by Peroxynitrite: Implications for Alzheimer's Disease*, „Biochemistry”, Vol. 44.
- Shen F., Zhao C., Shen M., Wang Z., Chen G., 2019, *The role of hydrogen sulfide in gastric mucosal damage*, „Medical Gas Research”, Vol. 9, No. 2.
- Słowiński D., Świerczyńska M., Grzelakowska A., Szala M., Kolińska J., Romański J., Podsiadły R., 2021, *Hymecromone naphthoquinone ethers as probes for hydrogen sulfide detection*, „Dyes and Pigments”, Vol. 196.
- Szabo C., 2012, *Roles of hydrogen sulfide in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications*, „Antioxidants & Redox Signaling”, Vol. 17, No. 1.
- Szabo C., Papapetropoulos A., 2017, *International union of basic and clinical pharmacology. CII: pharmacological modulation of H<sub>2</sub>S levels: H<sub>2</sub>S donors and H<sub>2</sub>S biosynthesis inhibitors*, „Pharmacological Reviews”, Vol. 69.
- Sun H., Wu Z., Nie X., Wang X., Bian J., 2021, *Implications of hydrogen sulfide in liver pathophysiology: Mechanistic insights and therapeutic potential*, „Journal of Advanced Research”, Vol. 27.
- Szłęzak D., Hutsch T., Ufnal M., Wróbel M., 2022, *Heart and kidney H<sub>2</sub>S production is reduced in hypertensive and older rats*, „Biochimie”, Vol. 199.
- Tadeusiewicz J., Olas B., 2014, *Siarkowodór – gaz nie tylko o właściwościach toksycznych*, „Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych”, t. 302.
- Xiao Q., Ying J., Xiang L., Zhang C., 2018, *The biologic effect of hydrogen sulfide and its function in various diseases*, „Medicine”, Vol. 97, No. 44.
- Xin Y., Wang M., Liu M., Chen Y., Zhao H., Zhang P., Li X., Wei C., 2022, *BODIPY-NBD dyad for highly selective and sensitive detection of hydrogen sulfide in cells and zebrafish*, „Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy”, Vol. 272.
- Xu S., Yang C., Meng F., Pacheco A., Chen L., Xian M., 2016, *Ammonium tetrathiomolybdate as a water-soluble and slow-release hydrogen sulfide donor*, „Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters”, Vol. 26.
- Yu F., Han X., Chen L., 2014, *Fluorescent probes for hydrogen sulfide detection and bioimaging*, „Chemical Communications”, Vol. 50.

- Zhang J., Ding Y., Wang Z., Kong Y., Gao R., Chen G., 2017, *Hydrogen sulfide therapy in brain diseases: from bench to bedside*, „Medical Gas Research”, Vol. 7, No. 2.
- Zhao Y., Biggs T., Xian M., 2014, *Hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) releasing agents: chemistry and biological applications*, „Chemical Communications”, Vol. 50.
- Zhao Y., Kang J., Park C., Bagdon P., Peng B., Xian M., 2014, *Thiol-activated gem-dithiols: a new class of controllable hydrogen sulfide donors*, „Organic Letters”, Vol. 16.
- Zhao Y., Wang H., Xian M., 2011, *Cysteine-activated hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S) donors*, „Journal of the American Chemical Society”, Vol. 133.
- Zhou L., Chen Y., Shao B., Cheng J., Li X., 2022, *Recent advances of small-molecule fluorescent probes for detecting biological hydrogen sulfide*, „Frontiers of Chemical Science and Engineering”, Vol. 16, No. 1.
- Zivanovic J., Filipovic R., 2016, *Hydrogen sulfide: stench from the past as a mediator of the future*, „Biochemical Society”, Vol. 38, No. 5.

## Biogramy

**Daniel Słowiński** – doktorant „InterChemMed” – interdyscyplinarnych studiów doktoranckich łódzkich uczelni publicznych; absolwent studiów magisterskich na kierunku Technologia Chemiczna, na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej. Tematyka jego pracy naukowej koncentruje się na poszukiwaniu nowych próbników fluorescencyjnych do wykrywania siarkowodoru (H<sub>2</sub>S).

**Radosław Podsiadły** pracuje w Instytucie Technologii Polimerów i Barwników Politechniki Łódzkiej na stanowisku profesora uczelni. W roku 1999 uzyskał tytuł magistra chemii na Wydziale Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. W 2004 roku na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej uzyskał tytuł doktora nauk chemicznych, a w roku 2013 tytuł doktora habilitowanego nauk technicznych. Obecnie jego zainteresowania naukowe obejmują syntezę i zastosowanie barwników do celów specjalnych, a w szczególności fluorogenne i luminogenne próbki do detekcji biologicznie ważnych utleniaczy.

**Daniel Słowiński** – PhD student at „InterChemMed” – interdisciplinary doctoral studies at Lodz public universities; He received his B.S and M.Sc. degrees in Chemical Technology from the Faculty of Chemistry of the Lodz University of Technology. His scientific work concentrates on searching a new turn on fluorescent probes to detect hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S).

**Radosław Podsiadły** is an Associate Professor at the Institute of Polymer and Dyes Technology at the Lodz University of Technology. He received his M.Sc. in 1999 from the Nicolaus Copernicus University in Torun, Poland. He obtained a Ph.D. in Chemistry in 2004, and in 2013 he received his habilitation in Chemical Technology from the Faculty of Chemistry of the Lodz University of Technology in Poland. His current research interests focus on the synthesis and application of functional dyes and fluorogenic/luminogenic probes for the detection of cellular oxidizing species.